

## ВВЕДЕНИЕ

Современное представление об иммунитете неразрывно связано с развитием концепции о биологической индивидуальности, т. е. о существовании индивидуальных структурных различий между населяющими Землю микро- и макроорганизмами на молекулярном уровне. Соматические и молекулярные различия организмов обусловлены уникальным строением нуклеиновой кислоты, что выражается неповторимой структурой молекул по верхностям мембран клеток и их метаболитов (например, экзотоксинов). Эти молекулы являются как бы отметинами особого устройства ДНК или РНК у данной клетки и сохраняются до тех пор, пока нуклеиновая кислота остается неизменной. Поскольку в определенном одно- или многоклеточном организме имеется всего одна нуклеиновая кислота или она всегда однотипна, каждый микро- или макроорганизм обязательно должен быть наделен генетически однородным набором подобных структур. Поэтому любое внедрение микробов или их метаболитов в макроорганизм, появление в нем собственных мутировавших клеток, по существу, представляет покушение на биологическую индивидуальность последнего и сопровождается специфической защитной реакцией организма. При этом клетки, организмы соединяются или отдельные молекулы, несущие на себе признаки генетической чужеродности, ожогаются с *антигенами*, а защитную реакцию, направляемую на поддержание генетического постоянства макроорганизма — с *иммунитетом* (от лат. *immunitas* — освобожденность). Специфическая реакция организма на антигенное раздражение называется *иммунным ответом*, в результате которого в организме вырабатываются специфические *антитела* и формируются специфически *сенситивизированные макрофаги*. Они соответственно нейтрализуют или разрушают индусирующие их антигены. Поэтому иммунную реакцию относят к *индивидуальным защитным механизмам* макроорганизма.

Несмотря на важную роль специфических механизмов защиты, выживание отдельных организмов и целых видов животных вряд ли было бы возможным без наличия уже готовых противомикробных факторов в интактном макроорганизме. Такие врожденные защитные механизмы хозяина называют *конститутивными*, а со-

### К44 Кисленко В. Н., Колычев Н. М.

Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 2. Иммунология. — М.: КолосС, 2007. — 224 с.: ил. — (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).

ISBN 978-5-9532-0405-7 (Ч. 2)  
ISBN 978-5-9532-0403-3

В учебнике изложены современные представления об антигенах, в том числе об антигенах микроорганизмов, о защитных механизмах макроорганизма (иммунная система, клетки, осуществляющие иммунный ответ, антитела, клеточные рецепторы для них и комплемент, иммунный ответ организма), о регуляции иммунного ответа, иммунодефицитах и прикладной иммунологии.

Для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Ветеринария».

УДК 575.636(075.8)  
ББК 28.674в73

ISBN 978-5-9532-0405-7 (Ч. 2)  
ISBN 978-5-9532-0403-3

© Издательство «КолосС», 2007

составляющие их клеточные и гуморальные компоненты — *факторы естественной резистентности*. Конститутивные механизмы также осуществляют надзор за генетическим постоянством внутренней среды и участвуют преимущественно в разрушении и выведении из организма антигенов, причем им присуща уже групповая специфичность.

Однако невосприимчивость макроорганизма обусловлена не только названными защитными механизмами. Во многих случаях определяющее значение имеет отсутствие в организме животного определенного вида необходимых для возбудителя ростовых веществ или рецепторов для их токсических метаболитов, причем данная видовая особенность животных передается по наследству.

Следовательно, невосприимчивость животных к инфекционным болезням можно подразделить на *врожденную*, обусловленную наследуемыми факторами, препятствующими размножению патогенных микробов или реализации их токсических свойств, и *приобретенную*, обусловленную системой иммунитета. Факторы естественной резистентности, очевидно, играют важную роль при обоих типах невосприимчивости, поскольку каждый из них сопряжен с необходимостью дезинтеграции и элиминации (удаления) антигенов.

Приобретенный иммунитет принято подразделять на активный и пассивный. В первом случае невосприимчивость приобретаетсся в результате переболевания (*естественный активный иммунитет*) или вакцинации животных (*искусственный активный иммунитет*), а во втором — в результате передачи потомству материнских антител (*естественный пассивный иммунитет*) или введения животному иммунной сыворотки (*искусственный пассивный иммунитет*). Активно приобретенный иммунитет длится несколько месяцев или лет, тогда как пассивный сохраняется несколько недель.

Если невосприимчивость сопровождается полной элиминацией возбудителя из организма, иммунитет называют *стерильным*; в случае сохранения невосприимчивости, пока в организме персистирует (сохраняется) возбудитель, иммунитет называют *нестерильным*.

## Глава 1 АНТИГЕНЫ

*Антигены* (от лат. anti — против и genus — происхождение, род, племя) — генетически чужеродные вещества, способные вызывать в организме специфические иммунные реакции и взаимодействовать с продуктами этих реакций.

Первоначально термин «антиген» применяли для обозначения любой молекулы, индуцирующей образование В-лимфоцитами специфических *антител*. Однако теперь этот термин имеет более широкий смысл, озаначая любую молекулу, которую могут специфически распознавать элементы системы приобретенного иммунитета, т. е. В-лимфоциты, либо и те, и другие.

Молекулы антигенов связываются не со всей поверхностью ин-фекционного агента. В соответствии со своей специфичностью каждая из них взаимодействует с одним из многих видов антигенных молекул на поверхности микробов. Против одного возбудителя может синтезироваться несколько различных по специфичности антител, связывающихся с разными антигенами на его поверхности. Антитела взаимодействуют с определенной областью молекулы антигена, названной *эпитопом*. Один антиген может иметь несколько различных или повторяющихся эпитопов (рис. 1). Антитела специфичны именно к эпитопам, а не ко всей молекуле антигена.

Таким образом, формируется разнообразие антител, достаточное для связывания всех тех различных антигенов, с которыми организм может столкнуться в течение жизни.

### 1.1. РАСПОЗНАВАНИЕ АНТИГЕНА — ОСНОВА ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА

В распознавании антигенов участвуют помимо антител и В-клеток также Т-клетки, но эти последние распознают антигены в виде небольших полипептидных фрагментов, локализованных вначале внутриклеточно, а затем представленных на клеточной поверхности. За этот процесс ответственна специализированная группа так называемых МНС-молекул, кодируемых набором генов главного комплекса гистосовместимости (от англ. major histocompatibility complex).

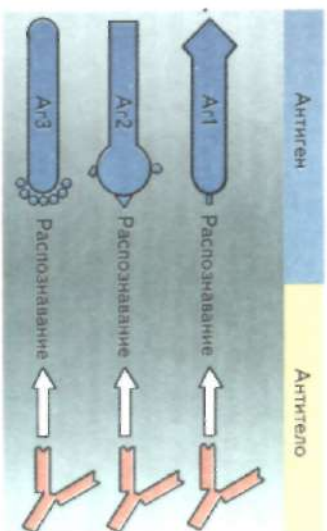


Рис. 1. Антигены.\*

Молекулы, вызывающие образование антител, называются антигенами. Каждая молекула антигена имеет набор антигенных детерминант, называемых эпитопами. Эпитопы одного антигена (Аг1) обычно отличаются от эпитопов другого (Аг2). Некоторые антигены (Аг3) имеют повторяющиеся эпитопы. Стереохимическая конфигурация эпитопов распознается антителами и Т-клеточными рецепторами, т. е. факторами приобретенного иммунитета. Каждая молекула антигена распознает не всю молекулу антигена, а один ее эпитоп. Даже самые простые по строению микроорганизмы обладают множеством различных антигенных белковых, липидной или углеводной природы.

Эпитопы одного антигена (Аг1) обычно отличаются от эпитопов другого (Аг2). Некоторые антигены (Аг3) имеют повторяющиеся эпитопы. Стереохимическая конфигурация эпитопов распознается антителами и Т-клеточными рецепторами, т. е. факторами приобретенного иммунитета. Каждая молекула антигена распознает не всю молекулу антигена, а один ее эпитоп. Даже самые простые по строению микроорганизмы обладают множеством различных антигенных белковых, липидной или углеводной природы.

Т-клетки распознают посредством своих антигенспецифических рецепторов (ТкР) пептидные фрагменты антигена, связанные с этими МНС-молекулами (рис. 2).

Важно запомнить, что антиген — это инициатор и движущая сила всех реакций приобретенного иммунитета. Иммунная система возникает для распознавания и разрушения чужеродных антигенов, а также устранения источника их образования — бактерий, инфицированных вирусом клеток и т. п. Когда антиген элиминирован, иммунный ответ прекращается.

Вещества, которые вызывают иммунные реакции и взаимодействуют с их продуктами, называют *полноценными антигенами*; вещества, взаимодействующие лишь со специфическими продуктами организма, называют *неполноценными антигенами*, или *гистами*.

Антигенами для организма могут быть собственные клетки с измененным геномом и образуемые ими молекулы; клетки другого

го животного, растительного организма и синтезируемые ими вещества; микроорганизмы, продукты их метаболизма или распада, а также синтетические органические молекулы. По химической природе они могут быть белками, полипептидами, полисахаридами, липополисахаридами или нуклеиновыми кислотами.

Однако лучшими антигенами по своим свойствам обладают вещества белковой природы и имеющие большую молекулярную массу. Из всех известных антигенов наиболее изученными считаются глобулины сыворотки крови животных. При этом важно учитывать *чужеродность антигена*. Чем больше выражено генетическое родство между животными, тем хуже проявляются антигенные свойства их веществ. Белки сыворотки бычьей крови, например, не антигены для крупного рогатого скота, слабо антигенны для мелкого рогатого скота и обладают выраженными антигенными свойствами для лошадей, кроликов, птиц и животных других видов.

Антигенность, таким образом, зависит от природы, молекулярной организации и степени родства генетически чужеродных ве-

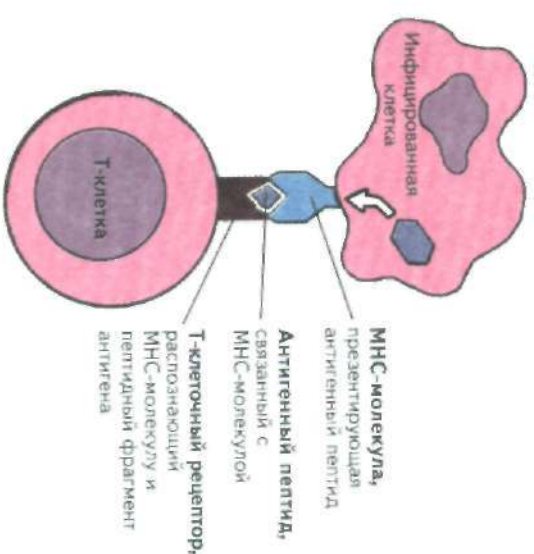


Рис. 2. Распознавание антигена Т-клеткой.

Т-клетки распознают антигены, вначале локализованные внутриклеточно, а затем появившиеся на поверхности других клеток, например зараженные пептиды из инфицированных клеток. Распознавание происходит путем специфического связывания с антигенными пептидами, презентированными на клеточной поверхности МНС-молекулами — продуктами генов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Распознавание уникального комплекса антигенный пептид + МНС-молекула Т-клеткой осуществляется посредством своих антигенспецифических рецепторов (ТкР). В отличие от В-клеток, распознающих определенный участок молекулы антигена, Т-клетки распознают эпитоп, образованный аминокислотными остатками антигенного пептида и МНС-молекулы.

\* Здесь и далее приведены рисунки по А. Ройт, М.: Мир, 2000.



шеств и служит их качественной характеристикой. Обычно говорят о большей, меньшей или слабой способности таких веществ вызывать иммунный ответ организма.

Независимо от природы по физическому состоянию антигены подразделяют на корпускулярные (частицы) и растворимые (молекулярно-дисперсные). Те и другие обязательно имеют концевые структуры, обычно выступающие над поверхностью молекул антигена, — антигенные детерминанты. Участки детерминант, специфически связывающиеся непосредственно с антителами, называют *антигенной группой*, которые в зависимости от свойств окружающей среды структурно могут оформляться по-разному, удерживаясь на носителе силами Ван-дер-Ваальса.

Гаттены, являясь неантигенными молекулами, при соединении с белком определяют его специфичность: при введении в организм животного конъюгированного с белком гаттена специфические антитела образуются именно к последнему, а не к носителю. Подобным образом синтезируются антитела к неантигенным веществам, с которыми контактирует организм (сульфаниламидные препараты, антибиотики, пикриловая кислота, фенол-фталейн и др.), что приводит к развитию *аллергии*. По-видимому, в большинстве случаев роль *аллергенов* (антигенов, вызывающих аллергию) выполняют *гаттены*.

Растворимые антигены содержат более или менее однородные, а корпускулярные антигены, как правило, — разнородные антигенные детерминанты. Но количество их на полномочном антигене всегда больше, поэтому их считают поливалентными.

## 1.2. АНТИГЕНЫ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

По специфичности их подразделяют на видовые, групповые, органнне и стагиспецифические.

*Видовая специфичность* антигенов лежит в основе иммунных реакций и позволяет дифференцировать животных различных видов. Видоспецифические свойства антигенов используются в судебной экспертизе, при идентификации хозяев крови, ветсанэкспертизе для определения фальсификаций мяса и мясопродуктов путем применения антивидовых сывороток. Максимально видоспецифическими свойствами обладают сывороточные белки. Поэтому лечебные сыворотки и тканевые вакцины стремятся получать на видоидентичных животных, а при введении животным чужеродных лечебно-профилактических препаратов учитывают возможные последствия антигенного несоответствия вводимых белков.

*Групповая специфичность* характеризует антигенные различия животных по полисахаридам эритроцитов, белкам сыворотки крови, поверхностным антигенам ядерных соматических клеток. Ан-

тигены, обуславливающие внутривидовые различия индивидумов или групп особей между собой, называют *изоантигенами* (например, групповые эритроцитарные антигены, трансплантационные антигены). Наличие группоспецифических антигенов учитывается при переливании крови, пересадке органов и тканей, а также используется в селекционной работе в качестве естественных генетических маркеров.

*Органоспецифичность* связана с неодинаковой антигенностью обычно изолированных от иммунной системы органов, тканей, как мозг, хрусталик глаза и сперматозоиды. При нарушении гистогематобарьеров антигены этих органов могут имуннизировать собственный организм, поэтому их называют *аутоантигенами*. В результате аутоиммунизации происходит повреждение органов и нарушение их функций. Часто ретицируют также случаи бесплодия скота из-за выработки в организме самок антител к семенным производителям, тем выше в се организме титр антител к его спермиям и тем меньше шансов на оплодотворение. Чтобы избежать подобных ситуаций, предназначенных для осеменения самок проверяют на наличие антител к конкретному сперме.

При раковых, лучевых, ожоговых, холодовых, медикаментозных поражениях, микробных инфекциях и интоксикациях могут развиваться аутоиммунные процессы, обусловленные появлением в организме антигенов с патологической специфичностью.

*Стагиспецифические* антигены возникают в процессе эмбриогенеза и четко характеризуют определенный этап внутриутробного развития животного, отдельных его паренхиматозных органов. Эти антигены поступают в кровоток матери и вызывают образование антител. По этим антителам можно определить глубину стельности, протекание дифференцировки эмбриональных тканей, а также тератогенные свойства вводимых беременным животным веществ.

В некоторых случаях присутствие в крови взрослых животных стагиспецифических антигенов используют в качестве показателя функционального состояния отдельных внутренних органов. Например, при раке печени в сыворотке крови появляются альфа-фетопрогенины, обычно синтезируемые фетальной печенью.

## 1.3. АНТИГЕНЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Антигены бактерий по локализации подразделяют на капсульные, соматические, жгутиковые и антигены экзопродуктов.

*Капсульные*, или *K-антигены*, являются внешними постоянными структурами поверхности микробной клетки. По химическому строению их идентифицируют в основном как полисахариды,



хотя прежнее подразделение К-антигенов эшерихий на L- и В-термолабильные антигены допускало и белковую природу этих структур. Их основу у пневмококков составляют повторяющиеся сахара — D-глюкоза, D-галактоза и L-рамноза.

В антигенном отношении капсульные полисахариды неоднородны. У пневмококков стрептококков, например, различают более 80 серологических вариантов (сероваров), что широко используется в диагностической и лечебно-профилактической работе. К более однородным К-антигенам полисахаридной природы относятся Vi-антигены энтеробактерий, брусцелл, франциселл; белковой полисахаридной природы — V-W-антигены иерсиний; белковой природы — M-протени стрептококков группы А, протени А стафилококков, K-88 и K-99 антигены эшерихий.

Из других внешних структур, обладающих антигенными свойствами, можно назвать корд-фактор микобактерий, полипептидные капсулы сибирязевого микроба, но из-за непостоянства их не относят к капсульным антигенам.

**Соматические**, или *O-антигены*, представляют собой боковые полисахаридные цепи липополисахаридов стенки грамотрицательных бактерий (эндотоксина), выступающие над поверхностью микробной клетки. Завершающиеся различными концевыми сахарами и оформленные по-разному, стерически они, по существу, представляют антигенные детерминанты. У сальмонелл насчитывают около 40 таких детерминант, до четырех на поверхности одной клетки. По их общности сальмонеллы объединяют в O-группы. Однако специфичность O-антигена сальмонеллы связана с липо-зоксигокозами (паратозой, колитозой, абеквозой, тивелозой и аскаридозой), уникальные C-концевые участки которых наиболее удалены от поверхности клетки и непосредственно связываются с активными центрами антител.

Белковая часть O-антигена (вернее, эндотоксина) ответственна за антигенные связи энтеробактерий, т. е. за неспецифические серологические реакции.

Соматическими эти антигены назвали, когда еще не знали точной их локализации. Фактически и K-, и O-антигены являются поверхностными, с той лишь разницей, что K-антиген всегда экранирует O-антигены. Поэтому для обнаружения O-антигена взвесь исследуемых бактерий подвергают предварительной температурной обработке.

**Жушковые**, или *H-антигены*, имеются у всех подвижных бактерий. Они представляют собой термолабильные белковые комплексы жгутиков, обладающие у многих энтеробактерий двумя наборами детерминант — специфической (первой) и неспецифической (второй, или второй) фазой.

Полная антигенная формула грамотрицательных бактерий записана в последовательности O : H : K. Антигены при этом являются наиболее стабильными маркерами определенных возбудите-

лей, благодаря чему удается сделать серьезный эпидемиологический или эпидемиологический анализ.

Антигены *экзотрофных* включают метаболиты бактериальной клетки белковой природы, среди которых наиболее изучены экзотоксины. Антигенные свойства экзотоксинов характеризуются высокой специфичностью и сохраняются после обработки формальдегидом в невысоких концентрациях. Обработанный подобным образом экзотоксин называют *анатоксином*, который используют в качестве вакцинного препарата.

Однако для экзотоксинов многих микробов характерна антигенная неоднородность. На этом основании экзотоксины *Clostridium botulinum*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* подразделяют на сероварианты.

Антигенными свойствами обладают также бактериальные споры. Они содержат антиген, общий вегетативной клетке, и собственно спорный антиген.

Таким образом, постоянные, временные структуры и формы бактерий, а также их метаболиты обладают самостоятельными антигенными свойствами, характерными, однако, для определенных видов микроорганизмов. Поскольку все они являются маркерами особого устройства ДНК у данного вида бактерий, часто на поверхности микробной клетки и в ее метаболитах содержатся общие антигенные детерминанты.

Последний факт имеет важное значение для совершенствования способов идентификации микроорганизмов. Так, например, вместо трудоемкой, дорогостоящей и не всегда воспроизводимой реакции нейтрализации для определения сероваров ботулинического микроба можно применить экспресс-метод, основанный на выявлении поверхностных детерминант при помощи реакции иммунофлюоресценции.

В отличие от антигенов другого происхождения среди бактериальных антигенов выделяют так называемые *протективные*, или *защитные*, антигены. Выработанные к этим антигенам антитела защищают организм от данного микроба. Протективными свойствами обладают капсульные антигены пневмококков, M-протени стрептококков, A-протени стафилококков, белок второй фракции экзотоксина сибирязевого бацилл, белковые молекулы др. Очищенные протективные антигены не обладают пирогенными, аллергизирующими свойствами, хорошо сохраняются и поэтому приближаются к идеальным вакцинным препаратам.

Протективные антигены обуславливают иммуногенность микробных антигенов. Антигены не всех микроорганизмов способны создавать одинаково выраженный иммунитет. Для повышения иммуногенности в ряде случаев антиген смешивают с *адьювантами* — неспецифическими стимуляторами иммунитета минеральной или органической природы. Чаще с этой целью используют

гидроокись алюминия, алюминиево-калиевые квасцы, ланолин, вазелиновое масло, липополисахарид бактерий, антигены борде-теллы и др. Наиболее популярным у исследователей является альбумин Фрейнда, состоящий из вазелинового масла, ланолина (неполный альбумин) и липополисахаридов микобактерий туберкулеза (полный альбумин).

Сущность альбуминного действия названных препаратов заключается в сдерживании поступления смешанного с ними антигена в организм, что пролонгирует его иммунизирующее действие, снижает реактогенность, а в некоторых случаях вызывает бласттрансформацию. Однако при изготовлении антисыворотки для иммунохимического анализа, особенно с целью установления природы антигенов или антигенных связей, использования микробных альбуминов избегают, поскольку они снижают специфичность антисыворотки. Происходит это за счет гетерогенности, или гетерофильности, антигенов, т. е. антигенной общности микробов различных таксономических групп, тканей растений, животных и человека.

В основе антигенного родства, вероятно, лежит схожесть строения липидов или полисахаридов организмов отдаленных видов. Например, форсмановский антиген обнаружен в эритроцитах коз, овец, лошадей, морских свинок, кур. Эритроциты имеют антигенную связь с бактериями практически всех семейств, большая часть которых, в свою очередь, вступает в перекрестные серологические реакции с клетками тканей млекопитающих, птиц, рыб, червей, растений.

Благодаря наличию общих антигенных детерминант микробы легче преодолевают защитные барьеры организма и размножаются в нем, вызывая локальные или системные поражения. У некоторых патогенных микроорганизмов (например, холерного вибриона) эта черта сильно выражена и прямо коррелирует с их вирулентностью. Часто гетерогенность обуславливает перекрестные серологические и аллергические реакции, что приводит к искажению результатов диагностических исследований.

**Контрольные вопросы и задания.** 1. Дайте определение антигену. 2. Что называют эпитопом? 3. Каким путем и посредством чего происходит распознавание антигена? 4. Назовите основные отличия полноценных антигенов от неполноценных? 5. На какие группы подразделяют антигены животного происхождения? 6. Назовите антигены бактериальной клетки. 7. Дайте определение протективных антигенов и альбуминов.

## Глава 2

### ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МАКРООРГАНИЗМА

#### 2.1. ЕСТЕСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Сразу после рождения, а часто и в период внутриутробного развития организм животного атакуют мириады микробных антигенов, но на образование специфических факторов защиты нужно время. Поэтому поддержание генетического статуса организма осуществляется не только эффекторами иммунитета, т. е. сенсигнированными лимфоцитами и специфическими антителами. В процессе эволюции у животных выработались специализированные системы защиты, существующие в организме в готовом виде с самых ранних этапов онтогенеза и имеющие более универсальный механизм разрушения микробов, причем универсальность их действия основана на общности точек первичного приложения представленных определенных структурами, которые повторяются у ряда микроорганизмов, часто далеко не родственных друг другу. Благодаря этому складывается впечатление о неспецифическом действии этих противомикробных факторов. Однако при более внимательном анализе механизма их действия выявляются определенные закономерности, позволяющая с уверенностью говорить о наличии у них групповой специфичности. Одни из них, например, избирательно дезинтегрируют грамотрицательные, другие — грамположительные бактерии, третьи преимущественно подавляют развитие в организме микробов, являющихся факультативными внутриклеточными паразитами. Поэтому под *естественной резистентностью* можно понимать врожденные внутренние механизмы поддержания генетического постоянства организма, обладающие широким диапазоном противомикробного действия.

Различают клеточные и гуморальные факторы естественной резистентности.

**Клеточные факторы** естественной резистентности участвуют в защите организма путем фагоцитоза и подразделены И. И. Мечникова на макро- и микрофаги.

Клеточная система, включающая «профессиональные» макрофаги, обозначается теперь как система *мононуклеарных фагоцитов*. Мононуклеарные фагоциты, включенные в эту систему, берут на-

чадо от костномозговых предшественников, транспортируются в периферическую кровь как моноциты. Затем через капиллярные стенки выходят в ткани, где становятся тканевыми макрофатами — гистиоцитами, купферовскими клетками, альвеолярными, свободными и фиксированными макрофатами лимфатических узлов, костного мозга, микроглии, серозных полостей и остеокластами.

Макрофаты представлены гранулоцитами — обычно зрелыми нейтрофилами и реже — эозинофилами.

Процесс фагоцитоза протекает стадийно: направленное перемещение клеток к объекту фагоцитоза (хемотаксис), захватывание и переваривание объекта фагоцитоза.

Хемотаксис осуществляется под действием пептидов фильтрата культур бактерий, комплемента (C3a, C5a, C5b67) и иммуноглобулинов классов G и M, полученных под воздействием SN-зависимой протеазы нейтрофилов (лейкопрезин). Направленная миграция клеток в ответ на действие пептидов объясняется связыванием их с рецепторами клетки и последующим расщеплением под влиянием пептидазы. Мононуклеары, участвующие в реакции гиперчувствительности замедленного типа и других клеточных реакциях, переориентируются к объекту фагоцитоза под влиянием хемотаксических факторов, вырабатываемых лимфоцитами.

Кроме участия в хемотаксисе комплемент и иммуноглобулины стимулируют фагоцитоз путем *опсонизации* микробов (от лат. *orsono* — приготавливать в пищу). Под действием опсонических факторов изменяется поверхность микробных клеток и усиливается прикрепление (аттракция) их к внешней мембране фагоцитов. Различают два основных опсонических фактора сыворотки крови — термостабильный IgG и термолabileльный C3. Комплемент в состоянии опсонизировать прототипические бактерии в R-форме при отсутствии иммуноглобулинов. Специфические иммуноглобулины опсонизируют микробы самостоятельно, нормальные — в синергизме с C3. Усиливающийся эффект комбинации связанного воздействия объясняется также тем, что C3 определяет связывание частиц с фагоцитами, а IgG стимулирует их поглощение и разрушение.

Для распознавания и захватывания чужеродного материала на поверхности мембран имеются рецепторы для Fc-фрагмента IgG и C3. Первый непосредственно взаимодействует с IgG, второй — с иммунными комплексами, образованными иммуноглобулинами всех классов. Опсонины связываются с поверхностью частиц и прикрепляют их к рецепторам фагоцитов. Это взаимодействие генерирует сигнал, который передается внутриклеточно и приводит к вытягиванию псевдоподий, примыкающих к прикрепленным частицам. Прикрепленные к частице филоподии формируют мембрану, покрывающую частицу, и она оказывается внутри клетки.

Переваривание начинается после умерщвления захваченных микробов. Фагоцитарная вакуоль сливается с лизосомами, образуя *фагосому*. Под действием гидролитических ферментов совершается деинтеграция частиц. В результате происходит так называемый *завершенный фагоцитоз*. При *незавершенном фагоцитозе* патогенные микроорганизмы не погибают, сохраняют способность к размножению и разрушению фагоцитирующей клетки.

После обработки гидролазами мононуклеаров иммуногенность антигена резко повышается. Образующаяся метаболически стабильная форма антигена в виде комплексов с РНК фагоцитов обеспечивает продолжительную стимуляцию Т- и В-лимфоцитов и иммунологическую память. При этом превращение антигена в иммуноген происходит эффективнее в клетках с более низкой концентрацией гидролаз, быстро и полно «перевариваемый» антиген не ингибирует образования антител, и фагоцитоз заканчивается фазой неспецифической защиты.

Неспецифическая фаза иммунитета проявляется самостоятельной способностью макрофатов разрушать или подавлять рост микроорганизмов внутри клеток, что определяет течение инфекционных болезней, вызываемых факультативными внутриклеточными паразитами — микобактериями туберкулеза, паратуберкулеза, лепры, бруцеллами, франциселлами, листериями, сальмонеллами, микоплазмами, кокардиями и др. Причем макрофаты иммунизированных этими микробами животных проявляют более высокую выживаемость и защитную активность не только к гомологичным, но и к гетерологичным бактериям. Например, проведен широкий производственный опыт, доказывающий реальную возможность профилактирования псевдотуберкулеза овец вакцинным штаммом ВЛЖ. Эта неопосредованная гуморальными факторами макрофагальная защита в данном случае носит групповой характер и не относится к внеклеточным микробам-паразитам.

Фагоциты, утилизируя антиген, не только освобождают организм от чужеродного материала, но и переводят его в формы, необходимые для индукции специфического иммунного ответа. Кооперируясь с Т-клетками, макрофаты участвуют в осуществлении активизирующих их вспомогательную функцию по выработке специфических антител. Т-клетки и иммуноглобулины, в свою очередь, становятся активаторами фагоцитоза. Таким образом, фагоцитоз как бы замыкает круг реакций, осуществляемых клеточными и гуморальными факторами иммунитета.

Интегрирующую роль фагоцитоз выполняет и в неспецифической защите. Захватывая и переваривая антигены, различные по происхождению и свойствам, зачастую без посредничества сывороточных белков, фагоциты осуществляют роль клеточного фактора естественной резистентности. Функционируя в таком виде,



они вместе с тем синтезируют ряд растворимых продуктов, которые вместе с иммуноглобулинами составляют гуморальные факторы естественной резистентности, обладающие важными защитными свойствами.

*Гуморальные факторы* естественной резистентности включают естественные, или нормальные, иммуноглобулины, лизоцим, бета-лизины, комплемент, пропердин и ряд других веществ, обладающих противомикробным действием.

Как и специфические иммуноглобулины IgG, IgM и IgA, естественные иммуноглобулины можно характеризовать с учетом более их низкой *аффинности* и большей зависимости от литических факторов естественной резистентности. Они служат источником хемотаксических пептидов, являются опсопинами, входят в рецепторный аппарат лимфоцитов и фагоцитов и в комбинации с комплементом вызывают лизис микроорганизмов.

*Лизоцим* — фермент с мурамидазной активностью. Его специфическая активность проявляется в гидролизе  $\beta$ -(1-4)-гликозидной связи полиаминосахаридов клеточной стенки микроорганизмов. Абсорбируясь на муконептле клеточной стенки, лизоцим расщепляет его с освобождением N-ацетилмуравовой кислоты и N-ацетилглюкозамина. В результате нарушается осмотическое равновесие и наступает гидролиз микробной клетки. Поскольку муконептид у грамположительных бактерий составляет фактически единственный слой стенки, лизоцим самостоительно лизирует преимущественно грамположительные микроорганизмы. Поэтому последние используют в качестве тест-микробов при определении лизоцимной активности. Особенно популярным в этом отношении является *Micostococcus luteolactiscus*. Грамотрипательные микробные клетки лизоцим лизирует только в синергизме с комплементом, который, расширяя отверстия в липопептидных слоях, обеспечивает доступ лизоциму к его субстрату.

Лизоцим синтезируется макро- и микрофитами, но первые выделяют его постоянно в процессе жизнедеятельности, вторые — лишь после разрушения. Попадая в лимфо-, кровотоки и экскременты, лизоцим фактически насыщает все биологические жидкости организма. Например, у крупного рогатого скота он содержится в околоплодной жидкости, молозиве, содержимом тонкого кишечника, в сыроворотке крови, в секретах слизистой оболочки глаз, носовой полости, потовых железах и других экскретах. Однако наибольшая концентрация регистрируется в околоплодной жидкости, затем в первых порциях молозива.

Лизоцим используют для консервирования черной икры, лечебных желудочно-кишечных заболеваний у молодняка, mastита у коров, а лизоцимный показатель — в качестве критерия состояния фагоцитарной системы организма.

*Бета-лизины* играют вспомогательную роль в литическом дей-

ствии лизоцима. Они вырабатываются тромбоцитами и действуют на грамположительные микроорганизмы.

*Комплемент* состоит из девяти компонентов (C1...C9) глобулиновой природы и рассматривается как комплекс проenzимов, требующих активации. Синтезируется комплемент преимущественно мононуклеарными фагоцитами. Первый компонент предшественно тремя субъединицами (C1<sub>q</sub>, C1<sub>r</sub>, C1<sub>s</sub>). Под действием иммунного комплекса макромолекула C1 активируется путем последовательного включения в реакцию C1<sub>q</sub>, C1<sub>r</sub> и C1<sub>s</sub>, последний из которых и катализировать образование C3-конвертазы — фермента, расщепляющего третий компонент комплемента.

В реакции иммунного гемолиза показано, что стабилизированная ионами Ca<sup>2+</sup> макромолекула C1 физически связывается с мембраной сенсibilизированных гемолизинами эритроцитов (EA), образуя с нею комплекс EAC1, который присоединяет C4. С комплексом EAC14 реагирует C2, образуя активатор для C3 в виде C4b2a. При этом важную роль играют катионы магния и кальция. Последние два компонента фиксируют C3 и при взаимодействии с C1 (горизонтальная надбуквенная черта обозначает активированную форму фрагмента) расщепляют его молекулу на связанный с эритроцитами (b) и свободный (a) продукты.

Сопряженный с клеткой C3b является участком связывания C5, который расщепляется C5-конвертазой, образованной взаимодействием активированных компонентов C4, C2 и C3. К фиксированному на эритроцитах C5 присоединяются C6 и C7. Получившийся трехмолекулярный комплекс образует связь для одной молекулы C8, с которой посредством абсорбции связываются три молекулы C9. Терминальные компоненты, начиная с присоединения C5b, формируют трансмембранные каналы в эритроцитах, образование которых завершается после погружения в мембрану C9. В результате в эритроците образуются отверстия, через них из клетки выходит низкомолекулярные вещества, а внутрь поступает вода, которая повышает внутриклеточное осмотическое давление, что в конечном итоге приводит к разрыву клеточной оболочки.

Аналогичный повреждающий механизм отмечают и при взаимодействии комплемента с микроорганизмами, сенсibilизированными иммуноглобулинами.

Каскад ферментативных реакций, приводящий к последовательной активации всех компонентов комплемента, начиная с первого, называют *классическим путем активации комплемента*, т. е. в этом случае обязательна фиксация ранних компонентов комплемента. Однако добавление к сыроворотке ЛПС бактерий, полисахаридов зимозина, инулина, пневмококка, полимера фталеллина вызывает усиленную активацию (фиксацию) поздних компонентов — C3... и т. д. Такой обходной путь, характеризующийся активацией поздних компонентов комплемента, начиная с C3,

называется *альтернативным*. В настоящее время выделяют несколько вариантов альтернативного пути активации комплемента, который наблюдается только в отсутствии катионов кальция.

В защите от инфекции эффективно именно сочетание классического и альтернативного путей активации комплемента, связ которых осуществляется через СЗв. Например, активация компонента под действием липида А эшерихий происходит по классическому, а под действием полисахарида ЛПС этих же бактерий — по альтернативному пути. Не случайно поэтому фагоциты и В-лимфоциты имеют рецепторы именно для СЗ, а не для других компонентов комплемента.

Многие сельскохозяйственные животные (свины, лошади, рогатый скот) имеют слабоактивные ранние компоненты, поэтому фиксация их комплемента и, следовательно, проявление им литической активности почти всецело зависят от альтернативного пути активации. Для этого у животных данных видов существуют особый природный альтернативный механизм, который называется *пропердиновым путем активации комплемента*.

Комплект принимает участие в защите организма, выводя из него аллергены посредством комплексобразования и образования анафилатоксина, который представляет собой субкомпоненты СЗ и С5 комплемента. Анафилатоксин увеличивает порозность капилляров, чем и способствует выделению аллергенов и иммунных комплексов из кровотока. Для этого один только СЗ или С5 высвобождают тистамин из базофилоцитов быстрее, чем это происходит под действием аллергена. Причем процесс этот не сопровождается разрушением гранул базофилоцитов, они секретируют тистамин.

Таким образом, защитная функция комплемента обусловлена участием его компонентов в хемотаксисе, иммуноаллергии (прилипании), лизисе сенсibilизированных клеток и анафилаксии. Следовательно, система комплемента функционирует синергично с системами клеточного и гуморального иммунитета.

*Пропердин* (от лат. *perdo* — губить, разрушать) открыт и описан в 1954 г. Он представляет собой белок, мигрирующий в бета-глобулиновой области. Находится в крови в виде предшественника, переход которого в пропердин связан с конформационными изменениями в молекуле белка. Под действием добавленных к сыворотке полисахаридов (ЛПС, зимозана, инулина) или IgA пропердин активируется и превращает СЗ-проактиватор (СЗРА) в энзим, способный активировать СЗ с образованием СЗв. В этом и заключается сущность альтернативного пути активации комплемента.

Для синтеза превращающей СЗ-конвертазы необходимо наличие в сыворотке комплекса СЗРА с СЗв. Последний образуется под действием СЗв-независимого или иницилирующего фермента (IF).

Появившийся СЗв соединяется с СЗРА и делает его доступным

для расщепления и активации СЗРА-конвертазой. В результате появляется активный комплекс СЗвВв, способный расщеплять СЗ как в жидкости, так и на поверхности клеток и тканей.

Для предотвращения спонтанной активации альтернативного пути в сыворотке имеется регуляторный белок СЗвINA. Путем расщепления СЗвВв-конвертазы инактивирующее действие СЗвINA усиливается ВbN-белком. Нативный пропердин, наоборот, стабилизирует СЗ/С5-конвертазу путем уменьшения скорости ее разрушения, в результате чего начинается лизис клеток. Пропердин, таким образом, является регулятором, усиливающим альтернативный путь. Сказанное можно проиллюстрировать опытом по влиянию пропердина на лизис клеток эшерихий. Система из СЗ, факторов В, D, C, ВbN-белка и компонентов С5, С6, С7, С8, С9 вызывает существенные морфологические изменения бактерий, которые дезинтегрируются под дополнительным воздействием лизоцима. При добавлении пропердина в физиологических количествах бактериолитическая способность системы увеличивается в 3 раза.

Помимо стабилизации СЗвВв-конвертазы на поздних этапах гемолитического процесса пропердин выступает в качестве ранней, недействующего компонента альтернативного пути активации комплемента в результате образования медлительных эритроцитов, присоединяясь к ним за счет разности зарядов. Эритроциты с адсорбированным пропердином могут быть лизированы последовательным действием позднействующих компонентов комплекса С6...С9, причем этот процесс происходит без участия иммуноглобулинов.

В силу описанного механизма запуска альтернативного пути пропердин является основным литическим фактором у животных, содержащих гемолитически малоактивный комплект (рогатый скот, лошади, свиньи и др.), играющим важную роль в защите от траматических микрорганов.

Иным механизмом противомикробного действия обладает *лактоферрин* — нетеминный гликопротеин с железосвязывающей активностью. Представляет он полипептидом с одной углеводной субъединицей молекулярной массой 77 000. Лактоферрин связывает два атома трехвалентного железа, конкурируя с микроорганозами, из-за чего их рост ингибируется.

Лактоферрин синтезируется полиморфно-ядерными лейкоцитами и пролейкемиными клетками железистого эпителия. Он отеняет в сыворотке крови и является специфическим компонентом секрета желез — молочной, слезных, слюнных, пищеварительного, дыхательного, мочевого тракта и др. Поэтому лактоферрин можно считать фактором местного иммунитета, нем лактоферрина коррелируют также противомикробные свойства экскретов, например коровьего молока.

называется *альтернативным*. В настоящее время выделяют несколько вариантов альтернативного пути активации комплекса, который наблюдается только в отсутствии катионов кальция.

В защите от инфекции эффективно именно сочетание классического и альтернативного путей активации комплекса, связь которых осуществляется через СЗв. Например, активации комплекса под действием липида А эшерихий происходит по классическому, а под действием полисахарида ЛПС этих же бактерий — по альтернативному пути. Не случайно поэтому фагоциты и В-лимфоциты имеют рецепторы именно для СЗ, а не для других компонентов комплекса.

Многие сельскохозяйственные животные (свины, лошади, рогатый скот) имеют слабоактивные ранние компоненты, поэтому фиксация их комплекса и, следовательно, проявление им литической активности почти всецело зависят от альтернативного пути активации. Для этого у животных данных видов существует особый природный альтернативный механизм, который называется *пропердиновым путем активации комплекса*.

Комплекс принимает участие в защите организма, выводя из него аллергены посредством комплексобразования и образования анафилатоксина, который представляет собой субкомпоненты СЗ и С5 комплекса. Анафилатоксин увеличивает порозность капилляров, чем и способствует выделению аллергенов и иммунных комплексов из кровотока. Для этого один только СЗ или С5 высвобождает гистамин из базофилов быстрее, чем это происходит под действием аллергена. Причем процесс этот не сопровождается разрушением гранул базофилов, они секретируют гистамин.

Таким образом, защитная функция комплекса обусловлена участием его компонентов в хемотаксисе, иммуноадезии (прилипанию), лизисе сенсibilизированных клеток и анафилаксии. Следовательно, система комплекса функционирует синергично с системами клеточного и гуморального иммунитета.

*Пропердин* (от лат. *perdo* — губить, разрушать) открыт и описан в 1954 г. Он представляет собой белок, мигрирующий в бета-глобулиновой области. Находится в крови в виде предшественника, переход которого в пропердин связан с конформационными изменениями в молекуле белка. Под действием добавленных к сыворотке полисахаридов (ЛПС, зимозана, инулина) или IgA пропердин активируется и превращает СЗ-проактиватор (СЗРА) в энзим, способный активировать СЗ с образованием СЗв. В этом и заключается сущность альтернативного пути активации комплекса.

Для синтеза превращающей СЗ-конвертазы необходимо наличие в сыворотке комплекса СЗРА с СЗв. Последний образуется под действием СЗв-независимого или иницирующего фермента (IF).

Появившийся СЗв соединяется с СЗРА и делает его доступным

для расщепления и активации СЗРА-конвертазой. В результате появляется активный комплекс СЗвВв, способный расщеплять СЗ как в жидкости, так и на поверхности клеток и частиц.

Для предотвращения спонтанной активации альтернативного пути в сыворотке имеется регуляторный белок СЗв1NA. Путем расщепления СЗвВв-конвертазы инактивирующее действие СЗв1NA усиливается в1N-белком. Нативный пропердин, наоборот, стабилизирует СЗ/С5-конвертазу путем уменьшения скорости ее разрушения, в результате чего начинается лизис клеток. Пропердин, таким образом, является регулятором, усиливающим альтернативный путь. Сказанное можно проиллюстрировать опытом по влиянию пропердина на лизис клеток эшерихий. Система из СЗ, факторов В, D, C, в1N-белка и компонентов С5, С6, С7, С8, С9 вызывает существенные морфологические изменения бактерий, которые дезинтегрируются под дополнительным воздействием лизоцима. При добавлении пропердина в физиологических количествах бактериолитическая способность системы увеличивается в 3 раза.

Понимая стабилизацию СЗвВв-конвертазы на поздних этапах гемолитического процесса пропердин выступает в качестве раннего, недействующего компонента альтернативного пути активации комплекса в результате образования медлительных эритроцитов, присоединяясь к ним за счет разности зарядов. Эритроциты с адсорбированным пропердином могут быть лизированы последовательным действием позднействующих компонентов комплекса С6...С9, причем этот процесс происходит без участия иммуноглобулинов.

В силу описанного механизма запуска альтернативного пути пропердин является основным литическим фактором у животных, содержащих гемолитически малоактивный комплекс (рогатый скот, лошади, свиньи и др.), играющим важную роль в защите от паразитических микроорганизмов.

Иным механизмом противомикробного действия обладает *лактоферрин* — нетеминный гликопротеид с железосвязывающей способностью. Представляет он полипептидом с одной углеводной группой и молекулярной массой 77 000. Лактоферрин связывает два атома трехвалентного железа, конкурируя с микроорганизмами, из-за чего их рост ингибируется.

Лактоферрин синтезируется полиморфно-ядерными лейкоцитами и пролейкемиными клетками железистого эпителия. Он содержится в сыворотке крови и является специфическим компонентом секрета желез — молочной, слезных, слюнных, пищеварительного, дыхательного, мочевого тракта и др. Поэтому лактоферрин можно считать фактором местного иммунитета, нем лактоферрина коррелируют также противомикробные свойства экскретов, например коровьего молока.



*Бактерицидная активность сыворотки крови* (БАС) является интестированным выражением противомикробных свойств входящих в ее состав гуморальных факторов естественной резистентности. Основными системными бактериологическими компонентами являются лизоцим (против грамположительных микробов) и комплемент (против грамотрицательных микробов). Действие последнего специфически направляют иммуноглобулины. Компоненты БАС никогда не будут постоянными, несмотря на поддержание активности на одном уровне. Следовательно, при изучении факторов, определяющих БАС, каждый раз нужно учитывать содержание гуморальных компонентов. Лимитирующими БАС-факторами у здоровых новорожденных телат являются IgG, у больных острыми желудочно-кишечными заболеваниями — IgM, а при бронхопневмонии — комплемент.

Помимо системного имеется местный, или локальный, иммунитет. За него ответственны клеточные (Т-клетки, макрофаги, нейтрофилы) и гуморальные факторы (SlgA-, SlgM-лизоцим, лактоферрин и др.). При этом происходит максимальное взаимодействие между компонентами, поскольку известно, что Т-клетки регулируют активность макрофагов, последние являются продуцентами лизоцима, который усиливает бактерицидность секреторных иммуноглобулинов. Поэтому факторы, определяющие местный иммунитет, также надо учитывать индивидуально.

При внутриутробном развитии у копытных животных передача материнского иммунитета отсутствует. Иммунологический статус организма сельскохозяйственных млекопитающих в данный период характеризуется аутосинтезом защитных факторов тканью плода. При этом синтез факторов естественной резистентности опережает развитие механизмов специфического реагирования.

Из факторов естественной резистентности первыми появляются клеточные: вначале моноциты, затем нейтрофилы и эозинофилы. Еще в эмбриональном периоде они обладают захватывающей и переваривающей способностью. Причем последняя преобладает и существенно не изменяется даже после приема новорожденными животными молока. К концу эмбрионального периода в крови животных накапливаются лизоцим, пропердин и в меньшей степени комплемент. С возрастом у плодов уровень этих факторов постепенно повышается. В предлодный и плодный периоды в фетальной сыворотке крови появляются иммуноглобулины в основном класса М и, реже, класса G. Они обладают функцией антител, преимущественно неполных. Однако с возрастом концентрация иммуноглобулинов, особенно IgG, изменяется неравномерно.

У новорожденных содержание всех факторов защиты повышается, но количественно лишь лизоцим достигает уровня, характерного для материнского организма; пропердина в это время, на-

оборот, больше, чем в сыворотке крови коров-матерей. После приема молока в организме новорожденных и их матерей сблизится комплемент, в организме новорожденных и их матерей сблизится. Концентрация комплемента не достигает материнского уровня даже в сыворотке крови 6-месячных телат.

Бактерицидная активность сыворотки крови по отношению к различным формам эшерихий постоянно регистрируется лишь после рождения животных и приравнивается к уровню материнского организма в послорождающий период. Широкоатые формы эшерихий лизируют и фетальная сыворотка крови сельскохозяйственных животных.

В амнионе и аллантоисе зародыша содержится лишь лизоцим, продуцируемый макрофагами, и комплемент. Взаимодействие этих факторов контролирует практически всю микрофлору околоплодной жидкости. Однако корреляции между уровнем гуморальной жидкости и сыворотке крови плодов не отмечается, что свидетельствует об их автономном синтезе.

Насыщение крови новорожденных копытных иммуными факторами происходит лишь колостральным путем. В молозиве коров содержится в убывающем количестве IgG, IgM, IgA и IgG2. Иммуноглобулин G1 примерно за 2 нед до отела селективно переходит из кровотока коров и накапливается в вымени. Остальные молизины иммуноглобулины синтезируются в молочной железе. В ней же образуются лизоцим и лактоферрин, которые вместе с иммуноглобулинами представляют гуморальные факторы локального иммунитета вымени.

Молизины иммуноглобулины переходят в лимфо-, а затем кровотоку неизмененными путем пиноцитоза. В крипах тонкого отдела кишечника имеются специальные клетки, избирательно транспортирующие молекулы молизины иммуноглобулинов. Причем селективность перехода их, например у крупного рогатого скота, временная: IgG пиноцитируется в течение 27 ч, IgA — 22 ч, а IgM — 16 ч. Процесс перехода молизины глобулинов связан с образованием гликокаликса и контролируется кортикостероидами. Иммуноглобулины лучше всасываются при спазмировании телат молизины в первые 4...5 ч путем подсоса или из полости близки от матери.

В эмбриональный период развития в крови животных выделяются Т- и В-клетки, несущие на своей поверхности иммуноглобулиновые рецепторы. Несмотря на более выраженный клеточный иммунитет, плоды способны реагировать на различные антигены (в том числе и микробные) антителообразованием.

Экспериментальным введением в фетальную ткань крупного и мелкого рогатого скота, свиней и лошадей бактерий, вирусов, токсинов и других антигенных препаратов обоснована возможность пренатальной иммунизации животных. Сформировавшиеся

плоды обычно четко отвечают на антигенный стимул, чем новорожденные животные, принявшие молозиво. Снижение иммунореактивности новорожденных животных в молозивный период связано с повышенным содержанием в крови сразу после рождения кортикостероидов, а также с доминирующей концентральной в ней материнских IgG, которые конкурируют с иммуноглобулинами телат при взаимодействии с антигеном. Поэтому вакцинацию приплода целесообразно проводить до приема новорожденными животными молозива или через несколько недель, когда закончится элиминация материнских иммуноглобулинов.

У грызунов (например, кур) материнские антитела могут переходить в кровь плодов через желточный мешок, а потом с молозивом. Поэтому собственный иммунитет у них довольно долго находится в подавленном состоянии.

У птиц (например, кур) материнские антитела передаются приплоду трансоварийно. Они сохраняются в желточной фракции желтка и, видимо, несущественно влияют на аутоиммунетизацию эмбрионами.

Однако независимо от видовой принадлежности животных в раннем периоде онтогенеза патогенные микробы сравнительно легко вызывают различные эмбрио- и фетопатии. В итоге нарушаются процессы эмбриогенеза, а внутриутробно инфицированные животные после рождения отстают в развитии и вскоре заболевают. При нарушениях процессов сорбции молозивных иммуноглобулинов или при их недостатке в выпаиваемом молозиве у новорожденных телат развиваются приобретенные острые желудочно-кишечные заболевания.

Механизм естественной резистентности изменяется в соответствии с состоянием организма животных. У здоровых новорожденных телат бактерицидную активность сыворотки и фагоцитарную активность лейкоцитов крови определяют IgG. На начальных этапах развития острых желудочно-кишечных заболеваний, вызванных эшерихиями и сальмонеллами, лимитирующим фактором будет IgM, а на фоне развития врожденной бронхопневмонии коковой этиологии — комплекс.

Макроорганизм способен одинаково специфично реагировать на аутоантигены, половые и соматические клетки другого организма, растительные и микробные антигены. Поэтому противoinфекционную защиту организма следует рассматривать как частный случай поддержания генетического постоянства его внутренней среды. Дифференцированная реакция организма на генетически чужеродные молекулы и структуры осуществляется при помощи морфологически обособленной и функционально специализированной иммунной системы.

## 2.2. ИММУННАЯ СИСТЕМА ОРГАНИЗМА

Иммунная система организма — это совокупность лимфоидных органов и тканей, генерирующих клетки, способные самостоятельно или путем синтеза антител специфически взаимодействовать с антигеном. В ее состав входят центральные и периферические органы. К центральным органам иммунной системы относят тимус, фабрициеву сумку, пейеровы бляшки и костный мозг. К периферическим органам причисляют кровь, лимфатические узлы и селезенку. Главным продуктом этой системы является лимфоцит.

Тимус, или *вилочковая железа*, закладывается в первый месяц эмбриогенеза. Ее масса достигает максимума к концу внутриутробного периода развития организма. С возрастом животных она инволюционирует, но совсем не исчезает. Коровий слой железы плотно заселен скопленными малых лимфоцитов, отторженными друг от друга эпителиальной тканью органа. Эти лимфоциты имеют Т-лимфоцитами.

*Фабрициева сумка* (или *бурса*) представлена в виде дивертикула клоаки птиц небольшим лимфоидом с мозговой и корковой зонами. У кур она формируется между 12-м и 13-м днем эмбрионального развития, а после 7-й недели жизни цыплят начинает атрофироваться. В корковой зоне находятся зрелые, а в мозговой — незрелые лимфоциты.

*Пейеровы бляшки* локализованы под слизистой оболочкой тонкого кишечника, и лимфоциты в них упакованы подобно фабрициевой сумке.

*Костный мозг* является поставщиком гемопоэтических стволовых клеток — родоначальниц всех клеток крови, в том числе и лимфоидных стволовых клеток, которые затем дифференцируются в эффекторы иммунитета. Все эти клетки располагаются в ячейках ретикулярной стромы.

*Кровь* является дискретной тканью периферической иммунной системы, ее форменные элементы представлены отдельными лимфоидными клетками различного назначения и разной степени зрелости, а также гранулоцитами и моноцитами. Кровоток животных насыщается лейкоцитами за счет лимфы и лимфоидных органов уже в период эмбриогенеза, но не одновременно. У крупного рогатого скота в первые месяцы внутриутробного развития в периферической крови плода появляются лимфоциты, эритроциты, эозинофилы и нейтрофилы. Лейкограмма пельдвумесечного возраста внутриутробного развития, характеризующаяся постоянным содержанием лимфоцитов. В начале онтогенеза они представляют преимущественно зрелыми, а с возрастом и незрелыми лимфоидными клетками. Моноциты попадают в периферическую кровь двухмесячных, а эозинофилы и нейтрофилы — трехмесячных эмбрионов.

*Селезенка* обладает собственно лимфоидной тканью (белая пульпа). Из-за отсутствия лимфатических сосудов белая пульпа посредством трабекул и синусов связана с кровотоком, снабжая его стволовыми и лимфоидными клетками. Построена белая пульпа по типу лимфатических узлов.

*Лимфатические узлы* — компактные образования, которые, кроме непосредственной связи с кровотоком, постоянно поставляют через грудной проток в перелюбую полую вену лимфоциты, преимущественно малые.

## 2.2.1. ЛИМФОИДНЫЕ ТКАНИ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ И ОБРАЗОВАНИЙ

• Лимфоидные органы и ткани относятся либо к первичным (центральному), либо ко вторичным (периферическим). Первичные лимфоидные органы — это тимус и красный костный мозг.

• Лимфоциты дифференцируются из стволовых лимфоидных клеток в первичных лимфоидных органах и мигрируют для выполнения своих функций во вторичные лимфоидные органы и ткани.

• Вторичные лимфоидные органы — это селезенка и лимфатические узлы; кроме того, в слизистых оболочках присутствуют участки вторичной лимфоидной ткани (лимфоидные образования), формирующие единую систему — лимфоидную ткань слизистых оболочек (ЛТС).

• Иммунный ответ на антигены, поступающие в организм через слизистые оболочки, начинается с примирования лимфоцитов, главным образом в пейеровых бляшках.

• Разные лимфоидные органы защищают различные системы организма: селезенка отвечает на антигены, циркулирующие в крови; лимфатические узлы реагируют на антигены, поступающие по лимфатическим сосудам, ЛТС защищает слизистые оболочки.

• Лимфоциты в большинстве — не оседлые, а циркулирующие клетки; они постоянно мигрируют из кровотока в лимфоидные ткани и вновь поступают в кровь через грудной лимфатический проток.

• Клетки, участвующие в иммунном ответе, для наиболее эффективного функционирования действуют в составе специализированных тканей и органов, образующих лимфоидную систему.

Функциональные клетки лимфоидной системы представлены генпресентирующими клетками (макрофаги и антигенные клетки). Все эти клетки функционируют в составе либо собственных, окруженных капсулой лимфоидных органов, либо диффузных образований.

Первичные лимфоидные органы служат основным местом развития лимфоцитов. Здесь лимфоциты дифференцируются из стволовых лимфоидных клеток, размножаются и созревают в функциональные клетки. У млекопитающих Т-лимфоциты созревают в тимусе, а В-лимфоциты — в печени плода и в костном мозге. Птицы имеют особое место образования В-клеток — фабрициеву сумку. Именно в первичных лимфоидных органах формируется репертуар специфичностей лимфоцитарных антигенсвязывающих рецепторов, и лимфоциты приобретают, таким образом, способность распознавать любые антигены, с которыми организм может столкнуться в течение жизни. Далее эти клетки подвераются отбору на толерантность к аутоантигенам, после чего уже в периферических лимфоидных органах или образованийх распознают только чужеродные антигены. В тимусе, кроме того, Т-клетки «учатся» узнавать собственные молекулы МНС. Вместе с тем известно, что некоторые типы лимфоцитов развиваются вне первичных лимфоидных органов.

Вторичные лимфоидные органы и образования представлены селезенкой, лимфатическими узлами и лимфоидной тканью слизистых оболочек, включая миндалины глоточного кольца и пейеровы бляшки подвздошной кишки. Вторичная лимфоидная ткань — это то микроокружение, в котором лимфоциты могут взаимодействовать с антигенами, между собой и со вспомогательными клетками. Для возникновения здесь иммунного ответа необходимы фагоцитирующие макрофаги, антигенпрезентирующие клетки, а также зрелые Т- и В-лимфоциты.

**Первичные лимфоидные органы.** Тимус — место размножения и созревания Т-клеток. У млекопитающих тимус (вилочковая железа) состоит из двух долей и расположен в грудной полости, над сердцем и крупными кровеносными сосудами. Каждая его доля состоит из долек, разделенных между собой соединительнотканными перегородками. Внутри каждой доли лимфоидные клетки (тимоциты) образуют наружную, *корковую зону* (*кортекс*) и внутреннюю, *мозговую зону* (*медулла*). В плотно заполненной корковой зоне преобладают относительно незрелые пролиферирующие тимоциты; в мозговой зоне находятся их более зрелые формы, в расположении которых виден градиент клеточной дифференцировки от корковой зоны к мозговой. Созревшие тимоциты мозговой зоны экспрессируют маркер CD44, отсутствующий на кортикальных тимоцитах. Этот маркер представляет собой рецептор, связывающий тиауронат и другие компоненты внеклеточного матрикса соединительной ткани; он выявляется на всех циркулирующих, но не на оседлых лимфоцитах. Основу структуры тимусных долек составляет сеть эпителиальных клеток, которым принадлежит существенная роль в дифференцировке костномозговых предшественников тимоцитов, приводящей к образованию зрелых Т-лимфоцитов.



В тимусных долях различают три типа эпителиальных клеток. По взаиморасположению, структуре, функции и фенотипу (набору) маркеров можно выделить не менее трех типов эпителии тимусной доли. Основу корковой зоны образует сеть *кортикальных эпителиальных клеток*, и, кроме того, в ней присутствуют эпителиальные клетки-нети; в мозговой зоне эпителиальные клетки расположены главным образом в виде плотных скоплений — кластеров. Помимо этих клеток в корковой зоне, преимущественно на переходе ее в мозговую, присутствуют разветвленные клетки, переплетенные отростками — *дендритные интердигитальные клетки*, ИДК — и макрофаги (и те, и другие костномозгового происхождения). Поступление клеток в тимус и их выход из него происходит по дольковым венам с высоким эндотелием (ВЭВ). Все эпителиальные клетки, ИДК и макрофаги экспрессируют на поверхности молекулы МНС, важные для развития и отбора Т-клеток.

Мозговая зона тимусных долек содержит *тельца Гассала* (тельца вилочковой железы). Функция их остается неизвестной; как установлено, они состоят из дегрирующих эпителиальных клеток, богатых высокомолекулярными кератинами.

Тимус млекопитающих претерпевает по мере созревания и строения организма обратное развитие. Оно начинается в период половой зрелости и продолжается до конца жизни. Возрастная до полного ее исчезновения, при сохранности мозговой зоны. Атрофия корковой зоны обусловлена чувствительностью кортикальных тимоцитов к кортикостероидным гормонам надпочечников. Например, атрофией тимуса сопровождаются все состояния, сопряженные с повышенной секрецией стероидов, в частности беременность и стресс. Однако генерация Т-клеток в тимусе может происходить и у взрослой особи, хотя с низкой частотой.

**Участки размножения и созревания В-клеток.** Развитие В-клеток происходит в печени плода, а после рождения — в костном мозге. В-клетки образуются из стволовых клеток в островках темнопозитивной ткани печени и костного мозга плода, а также постнатального костного мозга. Кроме развивающихся В-клеток, в постнатальном костном мозге присутствуют зрелые плазматические и Т-клетки. Следовательно, костный мозг функционирует и как важный вторичный лимфоидный орган.

У птиц дифференцировка В-клеток происходит в фабрициевой сумке, складки которой содержат лимфоидные фолликулы, имеющие корковую и мозговую зоны.

**Вторичные лимфоидные органы и образования.** Из первичных лимфоидных органов образовались здесь лимфоциты перемещаются во вторичные, периферические лимфоидные ткани — плотно структурированные, инкапсулированные органы (селезенка и лимфатические узлы) и бескапсульные скопления. Не окру-

женные капсулой островки лимфоидной ткани, расположенные большей частью в слизистых оболочках, называются лимфоидной тканью слизистых оболочек.

Функции лимфоидной ткани слизистых оболочек отличаются от функций других органов лимфоидной системы в иммунном ответе. Селезенка отвечает на антигены, находящиеся в крови (в случае удаления этого органа у больного повышается восприимчивость к возбудителям, проникающим в кровоток). Лимфатические узлы защищают организм от антигенов, проникающих через кожу или слизистые оболочки и затем транспортируемых с лимфой по лимфатическим сосудам. Иммунный ответ на проникающие таким путем антигены складывается из секреции антител в кровоток и из местных клеточных реакций. В отличие от этого лимфоидная ткань слизистых оболочек защищает именно слизистые. В ЛПС происходит *примирование*, т.е. первый контакт иммунных клеток с антигеном, поступающим с поверхности эпителия. Лимфоидная ткань присутствует в слизистой оболочке кишечника, дыхательных путей (в частности, бронхов) и мочеполовых путей. Основной эффекторный механизм местного иммунного ответа на уровне слизистых оболочек — это секреция и транспорт секреторных антител класса IgA (sIgA) непосредственно на поверхность ее эпителия. Не удивительно, что большая часть лимфоидной ткани организма (более 50 %) находится в слизистых оболочках и особенно обильно представлена в кишечнике, поскольку через слизистые оболочки и проникают в основном антигены извне. По той же причине антитела IgA представлены в организме в наибольшем количестве относительно других изотипов антител.

Инкапсулированные вторичные лимфоидные органы. Селезенка расположена в левом верхнем квадранте брюшной полости, позади желудка и вплотную к диафрагме. Снаружи селезенка покрыта соединительнотканной капсулой из пучков коллагеновых волокон, которые проникают в паренхиме органа, образуя короткие перегородки (трабекулы). Вместе с ретикулярной стромой они создают структурный каркас для массы заполняющих селезенку разнообразных клеток. В селезенке различают два основных типа тканей: красную пульпу и белую пульпу (мязь). *Белая пульпа* состоит из лимфоидной ткани, образующей вокруг центральных артерий периапериартерные лимфоидные «муфты» (ПАЛМ). В ПАЛМ имеются Т- и В-клеточные области; тогда как В-клетки могут образовывать первичные, «нестимулированные» фолликулы (агрегаты центральной артериолы, типичного лимфоцита) или вторичные, «стимулированные» фолликулы, содержащие центры размножения с клетками иммуноглобулиновой памяти. В центрах размножения присутствуют также фолликулярные дендритные клетки и фагоцитирующие макрофаги. В краевой зоне, расположенной над мантией, локализованы

специализированные макрофаги и субпопуляции В-клеток, отвечающих на тимуснезависимые антигены II типа, например на полисахариды. Макрофаги и фолликулярные дендритные клетки в селезенке презентруют антигены В-клеткам. По входящим в крайнюю зону капиллярным ответвлениям центральной артерии В-клетки и другие лимфоциты могут свободно поступать в ПАЛМ и покидать ее. Отдельные субпопуляции лимфоцитов, в частности созревающие плазмобласты, могут проходить через крайнюю зону в красную пульпу по сосудистым перемычкам.

*Красная пульпа* образована венозными синусоидами и клеточными тѣжами (ретикулум), пространство между которыми заполняют осевѣлые макрофаги, эритроциты, тромбоциты, гранулоциты, лимфоциты и многочисленные плазматические клетки. Отметим, что помимо своих иммунологических функций селезенка выполняет функцию депонирования тромбоцитов, эритроцитов и гранулоцитов. В ней также разрушаются отжившие тромбоциты и эритроциты. Этот процесс, называемый *гемокатерезом*, протекает в красной пульпе. Обеспечение депонирования и гемокатереза обеспечено особым строением кровеносной системы и селезенке. Окруженные ПАИМ центральные артериолы оканчиваются капиллярами, которые свободно открываются в тѣжах красной пульпы. Вследствие этого циркулирующие клетки, достигнув тѣжей, задерживаются в них. Здесь макрофаги распознают и фагоцитируют отжившие тромбоциты и эритроциты. Не поглощенные и не разрушенные клетки крови возвращаются в кровоток, «протискиваясь» сквозь неплотную эндотелиальную выстилку венозных синусоидов через щели между клетками, свободно пропускающие поток плазмы.

Лимфатические узлы и лимфатическая система. Лимфатические узлы составляют часть системы, которая «выдавливает» антигены из тканевой жидкости и лимфы во время ее протекания от периферии к грудному протоку через главные лимфатические коллекторы. Лимфатические узлы обычно расположены в местах разветвления лимфатических сосудов. В стратегических пунктах системы — шейной, подмышечной и паховой областях, средостении и брюшной полости — они образуют скопления, собирающие лимфу из соответствующих поверхностных и глубоких областей тела. Лимфатические узлы, расположенные поверхностно и называемые подкожными, защищают кожу. Висцеральные (глубокие) лимфоузлы осуществляют защиту слизистых оболочек (дыхательных путей, пищеварительного тракта и мочеполовых путей).

Лимфатические узлы — это образования округлой или бобовидной формы, диаметром 2...18 мм, с углублением для входа и выхода кровеносных сосудов, называемым *воротами*. Лимфа поступает в узел по нескольким лимфатическим (афферентным) лимфатическим сосудам и выходит из него по единственному выносящему (эфферентному) лимфатическому сосуду через ворота.

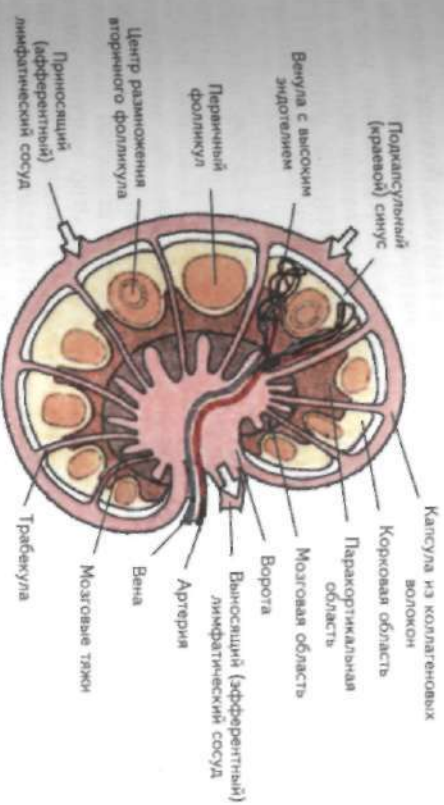


Рис. 3. Схема строения лимфатического узла.

Под капсулой, образованной коллагеновыми волокнами, находится толкательный синус, выстланный эндотелием и макрофагами. По приносящим лимфатическим сосудам из межклеточного пространства окружающих тканей и смежных лимфоузлов в него поступают лимфоциты и антигены. Корковая область заложена в основном В-клетками, образующими первичные, а чаще всего вторичные (т.е. содержащие центры размножения) фолликулы. Паракортикальная область содержит главные образцы Т-клетки. Каждый лимфатический узел снабжен обширными артериями и веной. Поступление лимфоцитов из кровотока происходит в паракортикальной области по функционально специализированным клеткам с высоким эндотелием (ВЕЭВ). В мозговой области содержится не только большая часть плазматических клеток лимфатического, но также Т- и В-клетки, образующие также лимфоидный ткань. Лимфоциты покидают лимфоузел уже через выносящий лимфатический сосуд.

Снаружи лимфатический узел покрыт капсулой из коллагеновых волокон. Радиально расположенные перегородки — trabeculae — вместе с тяжами ретикулярного остова поддерживают заднюю часть узла разнообразными клетками. В лимфоузле различают В-клеточную корковую область, или кортекс, Т-клеточную (паракортикальную) область и центральную (мозговую) область (рис. 3). Последняя образована клеточными тяжами, содержащими Т- и В-лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги.

Паракортикальная область содержит много перешеленных отростками (интердигитатных) клеток, экспрессирующих в большом количестве поверхностные антигены МНС класса II. Эти клетки собираются здесь, мигрируя из кожи (клетки Лангерганса) или из слизистых оболочек (дендритные клетки) и транспортируя при этом в лимфатические узлы процессированные антигены из наружных покровов тела и слизистых оболочек. Основная масса лимфоидной ткани лимфатического узла сосредоточена в корковой и паракортикальной областях. Мозговая область образована тучными, которые разграничивают лимфатические (мозговые) синусы, собирающие лимфу в краевой синус и далее в выносящий



лимфатический сосуд (см. рис. 3). Вдоль синусов, большей частью в мозговой области, расположены клетки, фагоцитирующие детрит. В процессе протекания лимфы через лимфатический узел из приносящих лимфатических сосудов в выносящий эти фагоцитирующие клетки вытесняются из нее кортикальные антигены и транспортируются в собственно лимфоидную ткань, лимфатического узла.

В корковой области содержатся скопления В-клеток, образующих первичные и вторичные фолликулы, тогда как в паракортикальной области находятся главным образом Т-клетки. Вследствие этого после инъекции любого Т-зависимого антигена в кожу или слизистую оболочку в паракортикальной области лимфоузла, дренирующего место введения, наблюдается активная пролиферация Т-клеток. Еще одно доказательство именно такой локализации Т-клеток отмечено у больных с наследственной аплазией, у которых паракортикальные области лимфатических узлов содержат меньше клеток, чем в норме. Подобные явления наблюдаются у неонатально тимэктомированных или наследственно бестимульных (голых) мышей и крыс.

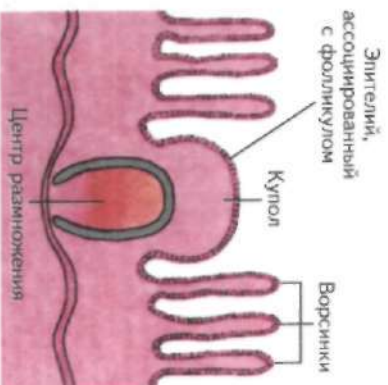
Центры размножения можно обнаружить во вторичных фолликулах лимфатических узлов, стимулированных антигеном. Они сходны с центрами размножения в В-клеточных областях селезеночных ПЛМ и ЛТС. Большие и малые клетки фолликулярных центров размножения называются *центробластами* и *центроцитами*. У пролиферирующих В-клеток в центрах размножения ядро имеет характерную расщепленную форму, что служит ценным признаком для дифференциальной диагностики некоторых злокачественных заболеваний, таких как центрально-центролитарные лимфомы, возникающие из этих клеток.

Центры размножения окружены мантией из лимфоцитов. На В-клетках в зоне мантии сопряжено экспрессируются (коэкспрессия) поверхностные IgM и IgD. Мантия большинства вторичных фолликулов имеет утолщение (корону) со стороны капсулы лимфоузла. Кроме В-клеток, во вторичных фолликулах содержатся фолликулярные дендритные клетки (ФДК), некоторое количество макрофагов и небольшое число Т-клеток CD4+, которые взаимодействуют с дендритными клетками центров размножения. Все перечисленные клетки вместе со специализированными макрофатами краевого синуса способствуют, по-видимому, возникновению В-клеточного иммунного ответа, в частности, развитию иммунологической В-клеточной памяти — одной из главных функций центров размножения.

**Лимфоидная система слизистых оболочек.** Лимфоидная ткань слизистых оболочек. Скопления бескапсулярной лимфоидной ткани можно обнаружить в собственной пластинке слизистых оболочек и в подслизистой ткани желудочно-кишечного тракта, дыхательных и мочеполовых путей. Лимфоидные клет-

рис. 4. Строение пейеровой бляшки.

Куполообразный выступ, образующий слизистую оболочку кишечника, на участке, лишенный ворсинок. Поверхностный эпителий на этом участке, называемый эпителием, ассоциированным с фолликулами (ЭАФ), содержит пролиферирующие В-клетки. В глубине слизистых оболочек расположено скопление вторичных лимфоидных фолликулов с крупными центрами размножения. Окружающие тинусовские межфолликулярные зоны содержат интердигитальные лимфатические узлы с высоким эпителием. Области купола между ЭАФ и фолликулами являются преимущественно В-клетками, большинство которых относится к клеткам иммунологической памяти



ки образуют в них одиночные или агрегированные скопления с центрами размножения (вторичные фолликулы). Сами слизистые оболочки пищеварительной, дыхательной и мочеполовой систем содержат дендритные клетки, необходимые для поглощения, процесса и транспорта антигенов в регионарные лимфатические узлы. Скопления лимфоидной ткани, расположенные в собственной пластинке слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, часто распространяются в подслизистый слой. Они имеют форму одиночных фолликулов или сгруппированных узелков, как, например, в червеобразном отростке слепой кишки. Пейеровы бляшки обычно встречаются в нижней части толстого кишечника. Покрывающий их эпителий кишечника (эпителий, ассоциированный с фолликулами) способен транспортировать антигены и микробы в лимфоидную ткань. Эту специализированную функцию выполняют особые эпителиальные клетки, рассеянные среди энтероцитов; они названы М-клетками, поскольку их обращенная в просвет кишечника поверхность образует многочисленные микро складки (рис. 4).

В базально-латеральной области М-клеток имеются глубокие инвагинации плазматической мембраны — карманы, в которых располагаются В- и Т-лимфоциты, дендритные клетки и макрофаги (рис. 5). Антигены и микробы подвергаются трансцитозу в эти карманы и далее в организованную субэпителиальную лимфоидную ткань слизистых оболочек. М-клетки встречаются не только в участках пейеровых бляшек, но и в других лимфоидных образованиях слизистых оболочек.

При местном гуморальном иммунном ответе на уровне слизистых оболочек происходит образование антител в основном изотипа IgA. Секреторные IgA — это антитела, способные проникать через мембраны эпителиальных клеток для обеспечения защиты от патогенных микробов (рис. 6).

Лимфоциты слизистых оболочек. Помимо организованной лимфоидной ткани, образующей естественную систему ЛТС,



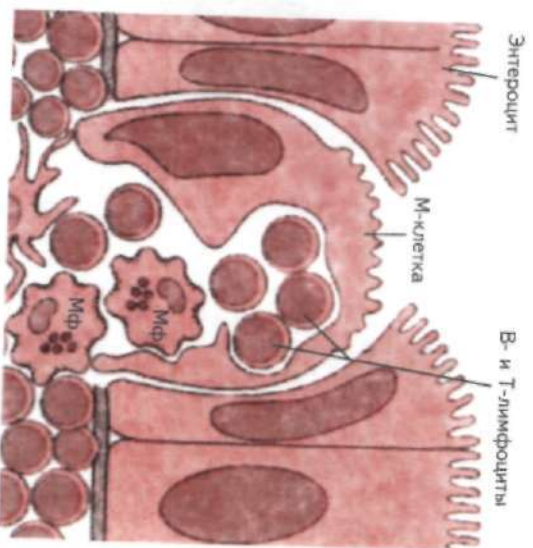


Рис. 5. Схематическое изображение М-клетки кишечного ЭАФ.

Во внутриклеточном кармане находятся лимфоциты и нерезко макрофаги (Мф). Эндоцитозные М-клеточные антигены попадают через этот карман в субэпителиальную лимфоидную ткань. (ЭАФ — эпителий, ассоциированный с фолликулами.)

В слизистой оболочке желудка, кишечника, верхних и нижних дыхательных путей и некоторых других органов присутствует множество рассеянных лимфоцитов и плазматических клеток. Лимфоциты обнаруживаются в соединительной ткани собственной пластинки и в эпителиальной выстилке.

Среди лимфоцитов собственной пластинки (ЛСП) преобладают активированные Т-клетки, но в значительном количестве присутствуют также активированные В-клетки и плазматические клетки секретируют антитела преимущественно изотипа IgA, транспортируемые через клетки эпителия и высокободжаемые в просвет органа (см. рис. 6).

Внутриэпителиальные лимфоциты (ВЭЛ) представлены в основном Т-клетками, отличающимися по фенотипу от ЛСП.

Большинство ЛСП и ВЭЛ относятся к клеткам иммунологической памяти, несущим маркер CD45RO (см. рис. 44). Они слабо отвечают на стимуляцию антигенами к CD3, но чувствительны к другим механизмам активации, например опосредованным CD2 или CD28.

Почволишеся Т-клетки периферической крови не экспрессируют интегритиновою  $\alpha$ -цепь NML-1 (CD103), но стимуляция фитогематогитинином (ФГА) индуцирует ее синтез. Антигена к этой цепи митогенны для тех же клеток и вызывают у них экспрессию

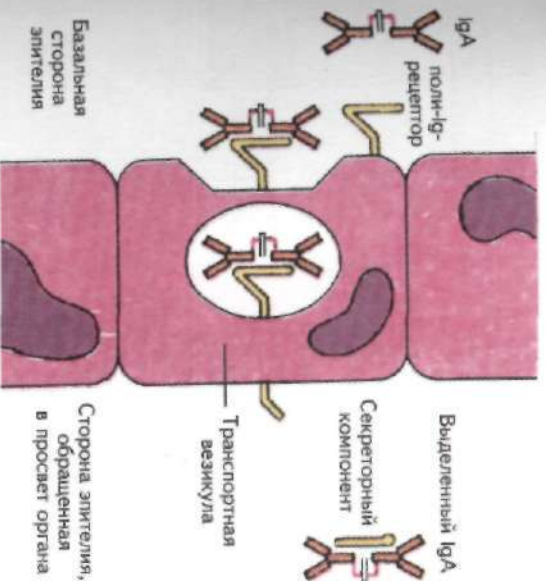


Рис. 6. Транспорт антигена IgA через эпителий слизистой оболочки.

Димеры IgA (sIgA), выделяемые плазматическими клетками в собственной пластинке слизистой оболочки кишечника, связываются поли-йе-рецепторами на базальной стороне эпителия. Затем комплекс sIgA-рецептор путем эндоцитоза и нереноса через клетку в транспортируемых везикулах (с мембраной которых они связаны) доставляются на повернувшись эпителии, образуя в просвет кишечника. Здесь, транспортные везикулы сливаются с плазматической мембраной клеток эпителия, высвобождая димеры IgA с присоединенным секреторным компонентом (фрагмент рецептора) в просвет, где секреторный компонент предохраняет димеры IgA от расщепления протеолитическими ферментами

$\alpha$ -цепи низкоаффинных рецепторов ИЛ-2 (CD25). Полипептид NML-1 — это  $\alpha$ -цепь из семейства интегритинов, образующая при взаимодействии с  $\beta$ -цепью гетеродимер  $\alpha$ NML-1- $\beta$  — интегритин, который синтезируют ВЭЛ и другие активированные лимфоциты. Внутриэпителиальные лимфоциты выделяют ряд цитокинов, в том числе  $\gamma$ -интерферон (ИФ $\gamma$ ) и интерлейкин-5 (ИЛ-5). Одна из функций ВЭЛ состоит, предположительно, в иммунологическом надзоре, направленном на устранение мутантных или инфицированных вирусами клеток.

## 2.2.2. Циркуляция лимфоцитов

Миграция лимфоцитов из первичных во вторичные лимфоидные ткани уже описана выше. Оказавшись во вторичных лимфоидных органах и образованиях, многие лимфоциты не остаются в кровеносном и лимфатическом сосудах.



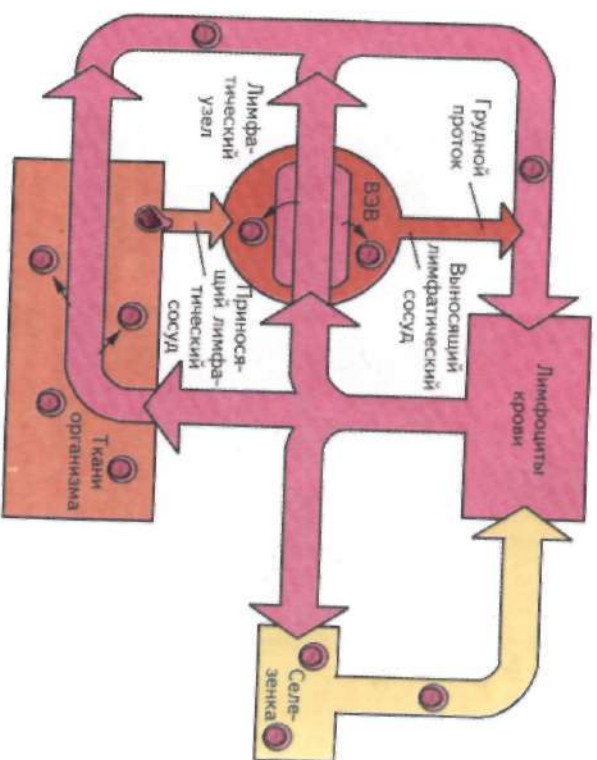


Рис. 7. Циркуляция лимфоцитов в организме.

Лимфоциты из кровотока проникают в лимфатические узлы и в ЛТС через специализированную высокую эндотелий посткапиллярную венулу (ВЭВ); затем они покидают лимфоидную ткань по выходящим лимфатическим сосудам и, пройдя сквозь другие лимфоиды, возвращаются в кровоток по грудному протоку, выходящему у человека в левую подключичную вену. В селезенке лимфоциты доходят в венулу пупка через кровеносные зоны; затем, попадая в синусы, покидают орган через селезеночную вену.

У большинства млекопитающих лимфоциты выходят из кровотока в лимфоидную ткань через стенки венул с высоким эндотелием, или высокоэндоцеллюлярные венулы (ВЭВ) (рис. 7), и лишь некоторые лимфоциты переходят из кровотока в лимфоидную ткань через обычные посткапиллярные венулы.

В лимфатических узлах эти сосуды находятся главным образом в паракортикальной области и иногда в корковой, но не в мозговой. Вместе с тем часть лимфоцитов, в первую очередь Т-клетки, поступают в регионарный лимфатический узел из дренируемой ВЭВ. Тем же путем в лимфоиды поступает большинство антигенов. Венулы с высоким эндотелием обнаружены не только в лимфатических узлах, но и в ЛТС, а также в тимусе.

Венулы с высоким эндотелием управляют циркуляцией лимфоцитов. Эти венулы выстланы кубическими эндотелиальными клетками, которые в отличие от покоящихся плоских клеток эндотелиальной выстилки обычных венул экспрессируют при активации разнообразные молекулы межклеточной адгезии. Один из

механизмов активации клеток эндотелия опосредован локально синтезируемыми цитокинами, такими, как  $\gamma$ -интерферон (ИФ $\gamma$ ), интерлейкины (ИЛ) и фактор некроза опухоли (ФНО).

Эндотелий обычных венул может превращаться в кубический в участках хронического воспаления, например в коже или в синусах ВЭВ набухают в очаг воспаления специализированные субпопуляции Т-лимфоцитов. Активированные кубические эндотелиоциты экспрессируют ряд молекул межклеточной адгезии из суперсемейства иммуноглобулинов [ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102) и VCAM-1 (CD106)] или из семейства селектинов, в том числе E-селектин [ELAM-1 (CD62E)] и P-селектин (CD62P). P-селектин хранится в тельцах Вейсбаха—Палада эндотелиальных клеток кровеносных капилляров и при активации быстро доставляется на поверхность эндотелиоцита. Венулы играют роль в прилипании лимфоцитов к эндотелию принадежит CD44—белку с молекулярной массой 190 000, который экспрессируют все лейкоциты. Предположительно, между лимфоцитами и эндотелием возникают специфические лиганд-рецепторные взаимодействия, в результате которых лимфоциты направляются в определенные ткани—мишени. Это происходит за счет экспрессии эндотелием специфических для данного органа «адресинов», например MadCAM-1 на эндотелиоцитах в кишечнике и VCAM-1 на эндотелиальных клетках в других органах. Для избирательного органоспецифического распределения лимфоцитов важны также особые молекулы «хоминг», или эффекта «дома» (от англ. homing—возвращение домой). Например, решающее значение для возвращения лимфоцитов в лимфоидную ткань кишечника имеют их интегрин  $\alpha 4 \beta 7$ , которые связываются с адресинами MadCAM-1 на эндотелиальных клетках ВЭВ в пейеровых бляшках.

Благодаря циркуляции любой антиген экспонируется множеству лимфоцитов. Из лимфатических узлов лимфоциты возвращаются в кровоток по выходящим лимфатическим сосудам, через грудной проток и подключичную вену. Ежедневно в рециркуляцию вовлекается 1...2 % лимфоцитов. В итоге этот процесс позволяет множеству антигенспецифических лимфоцитов встретиться с соответствующими антигенами, проникшими в их микроокружение в периферических лимфоидных органах. Особая важность рециркуляции становится очевидной, если вспомнить, что лимфоидные клетки моноспецифичны, и лишь ограниченное число лимфоцитов способно распознавать каждый конкретный антиген.

В норме рециркуляция лимфоцитов через лимфатические узлы происходит постоянно, но если в лимфоидную ткань ранее сенсибилизированного к тому или иному антигену животного повторно попадает данный антиген, рециркуляция прекращается приблизительно на 24 ч. Временная остановка рециркуляции обусловлена в этом случае избирательной задержкой антигенспецифических



лимфоцитов в лимфатических узлах, дренирующих место проникновения антигена. Например, образовавшиеся в результате контакта с антигеном лимфоциты уже не рециркулируют, остаются, по-видимому, в месте встречи с антигеном.

Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками, отличается как система от других лимфоидных органов в рециркуляции главным образом в эту ткань. Так, лимфоциты, стимулированные в пейеровых бляшках, проходят через ретикулярные лимфатические узлы в кровоток, а затем возвращаются в «домой», в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника. Такая специфическая рециркуляция объясняется тем, что эти лимфоциты экспрессируют молекулы «хоминга», которые связываются со специфическими молекулами адгезии — адресинами — на поверхности эндотелиоцитов. Адресины экспрессирует только эндотелий венул лимфоидной ткани слизистых оболочек, но не ВЗВ обычных лимфатических узлов (см. выше), что и обеспечивает избирательную рециркуляцию. По той же причине стимуляция антигеном в области слизистой оболочки (в том или ином участке организма) вызывает системное образование антигел преимущественно в ЛТС.

### 2.3. КЛЕТКИ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИЕ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

В иммунном ответе участвует целый ряд клеток и выделяемых ими растворимых продуктов. Центральная роль всегда принадлежат лейкоцитам, однако другие клетки (например, тканевые) также вносят свой вклад, посылая сигналы лимфоцитам и отвечая на рециркуляцию основных клеток и молекул, принимающие участие в иммунологических реакциях организма.

Выполнение специализированных функций в иммунном ответе осуществляют клетки различного происхождения. В- и Т-лимфоциты экспрессируют на своей поверхности антигенсвязывающие рецепторы и другие молекулы (маркеры), необходимые для выполнения разнообразных функций. Для Т-клеточного ответа требуется представление антигенов антигенпрезентирующими клетками. В-клетки способны распознавать нативные антигены, не пролессированные и не представленные другими клетками.

Различные функциональные субпопуляции Т-лимфоцитов проявляют хелперную (Тх), супрессивную или цитотоксическую (Тс) активность. Фагоцитирующие клетки, несущие специфические поверхностные маркеры, циркулируют в крови (моноциты и тучные клетки) и присутствуют в тканях (например, клетки Купфера в печени). Эозинофилы, базофилы, тучные клетки и тромбоциты принимают участие в воспалительной реакции.

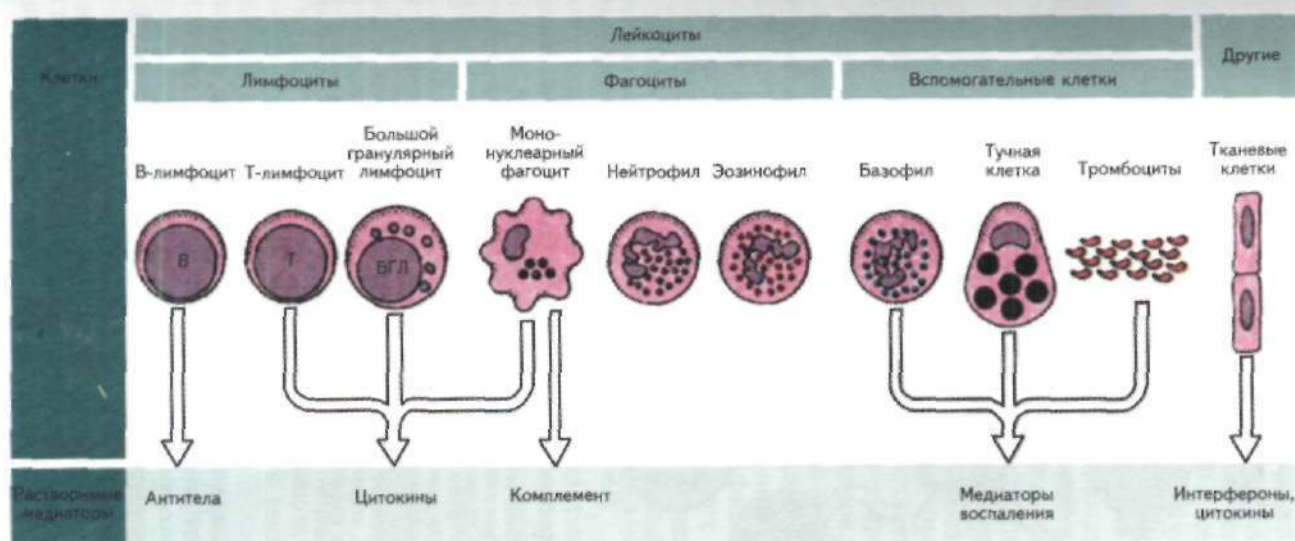


Рис. 8. Основные элементы иммунной системы.

Стрелками указаны растворимые медиаторы иммунного ответа. Компоненты комплемента синтезируются преимущественно клетками печени



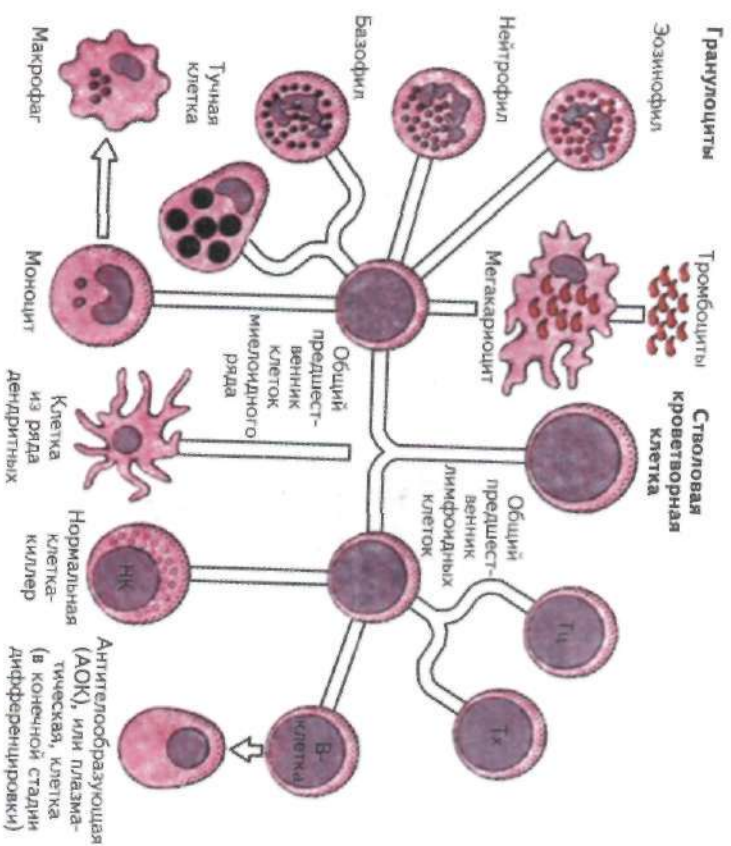


Рис. 9. Происхождение клеток, осуществляющих иммунный ответ.

Все клетки гемопоэтического происхождения образуются из pluripotential stem cells, дающих начало клеткам двух основных направлений кроветворения: лимфоидного и миелоидного. В зависимости от микроокружения клетки-предшественники лимфоидного ряда могут дифференцироваться либо в Т-, либо в В-клетку. У млекопитающих Т-клетки созревают в тимусе, тогда как В-клетки развиваются сначала в печени плода, а после рождения — в костном мозге. Точное происхождение отдельных видов антигенпрезентирующих клеток (АПК) клеток. Нормальные клетки-киллеры (НК) происходят из гемопоэтических стволовых клеток лимфоидного ряда, созревающих в печени плода, а после рождения в костном мозге. Предшественники клеток миелоидного ряда дифференцируются в эритроциты (красные кровяные клетки), лейкоциты (белые кровяные клетки), эозинофилы, нейтрофилы и базофилы объединены под групповым названием гранулоциты.

Предшественниками клеток иммунной системы служат pluripotential stem cells, которые проходят два основных пути дифференцировки (рис. 9).

Лимфоциты могут относиться к Т-, В- и НК-клеткам. Две главные популяции лимфоцитов — это Т-клетки и В-клетки. Т-клетки развиваются из своих предшественников в тимусе, тогда как В-клетки у млекопитающих сначала дифференцируются в печени плода, а после рождения — в красном костном мозге. У птиц диф-

ференцировка В-клеток происходит в уникальном для этого класса позвоночных органе — фабрициевой сумке. Органы, где происходит дифференцировка лимфоцитов, относятся к центральным, или первичным, лимфоидным органам. Именно в них предшественники В- и Т-лимфоцитов приобретают способность распознавать антигены благодаря экспрессии антигенспецифических поверхностных рецепторов.

Лимфоциты третьей популяции, не экспрессирующие антигенсвязывающие рецепторы, называют нормальными (естественными) клетками-киллерами (НК). Они происходят из предшественников лимфоидных клеток в костном мозге и функционально отличаются от Т- и В-клеток своей способностью лизировать *in vitro* клетки определенных опухолевых линий (но не свежесделанных опухолей) без предварительной иммунизации. Морфологически это большие зернистые (гранулярные) лимфоциты (БЛД).

Моноциты/макрофаги или полиморфно-ядерные гранулоциты могут функционировать в качестве фагоцитов. У полиморфно-ядерных гранулоцитов ядро неправильной формы, сегментированное (полиморфное). В зависимости от характера окрашивания цитоплазматических гранул кислотными и основными красителями гранулоциты относят к нейтрофилам, базофилам или эозинофилам. Эффекторные функции клеток этих трех типов различны. Наиболее многочисленными нейтрофилами, называемые также полиморфно-ядерными нейтрофилами (ПМН) и составляющие большинство лейкоцитов (белых кровяных телец) в циркулирующей крови (примерно 60...70%).

Помимо лимфоцитов и фагоцитов к компонентам иммунной системы относятся *всегомагелльные клетки* (АПК) представляют антигенпрезентирующие клетки (АПК) представляют антигенпрезентирующие клетки (АПК) представляют антигенпрезентирующие клетки (АПК).

Антигенпрезентирующие клетки (АПК) представляют антигенпрезентирующие клетки (АПК) представляют антигенпрезентирующие клетки (АПК).

Тромбоциты участвуют в свертывании крови и в воспалительных реакциях.

Тучные клетки, структурно и функционально сходные с базофильными полиморфно-ядерными гранулоцитами, принимают участие в воспалении определенных типов.

Эндотелиальные клетки экспрессируют молекулы, способные улавливать циркулирующие с кровотоком лейкоциты, обеспечивая таким образом их адгезию — прилипание, а также распределение в сосудистом ложе.

**Фагоциты и фагоцитоз.** Мононуклеарные фагоциты. Наиболее важная группа способных к фагоцитозу и долгоживущих клеток — популяции мононуклеарных фагоцитов (см. рис. 9). Эти клетки, происходящие из стволовых клеток костного мозга, осуществляют захват частиц, в том числе инфекционных агентов, поглощают и разрушают их. Для выполнения этой функции фагоциты стратегически располагаются в тех тканях организма, где возможно попадание таких частиц. Например, клетки Купфера



выстилают кровеносные синусоидальные капилляры печени, а синовиальными А-клетками выстланы полости суставов. Мононуклеарные фагоциты, циркулирующие с кровью, называются моноцитами. Из крови они мигрируют в ткани, где превращаются в тканевые макрофаги, способные весьма эффективно презентировать антигены Т-лимфоцитам. Однако наиболее важны для презентации антигена покровишися Т-клеткам интердипитатные дендритные клетки.

**Полиморфо-ядерные нейтрофилы.** Вторая значительная группа фагоцитирующих клеток — это полиморфо-ядерные нейтрофильные гранулоциты, часто называемые просто нейтрофилами или ПЯН. Нейтрофилы составляют большинство среди лейкоцитов крови и происходят от тех же ранних клеток-предшественников, что моноциты и макрофаги. Подобно моноцитам, нейтрофилы мигрируют в ткани, отвечая на определенные стимулы, но в отличие от моноцитов относятся к короткоживущим клеткам, которые, поглотив чужеродный материал, разрушают его и затем погибают.

**Популяции лимфоцитов.** Лимфоциты представлены двумя большими популяциями — В-клетками и Т-клетками, которые ответственны за специфическое распознавание антигенов. Специфическое иммунологическое распознавание патогенных организмов — это всецело функция лимфоцитов, поэтому именно они инициируют реакции приобретенного иммунитета. Все лимфоциты происходят из стволовых клеток костного мозга, но Т-лимфоциты затем развиваются в тимусе, тогда как В-лимфоциты продолжают свое развитие в красном костном мозге (у взрослых особей — в селезенке).

**В-лимфоциты.** Каждая В-клетка генетически запрограммирована на синтез поверхностного рецептора, специфичного к одному определенному антигену. Встретив и распознав этот антиген, В-клетки размножаются и дифференцируются в плазматические клетки, которые образуют и выделяют в растворимой форме большие количества таких рецепторных молекул, называемых антителами. Антитела представляют собой крупные гликопротеиды и содержатся в крови и тканевой жидкости. Благодаря своей идентичности исходным рецепторным молекулам они взаимодействуют с тем антигеном, который первоначально активировал В-клетку.

**Т-лимфоциты.** Имеется несколько субпопуляций Т-клеток с различными функциями. Одни взаимодействуют с В-клетками, помогая им размножаться, созреть и продуцировать антитела. Другие взаимодействуют с мононуклеарными фагоцитами, способствуя разрушению локализованных в них микроорганизмов. Обе эти субпопуляции Т-клеток называются *хелперными Т-клетками* (Тх). Третья субпопуляция Т-клеток осуществляет разрушение клеток организма, зараженных вирусами или иными внутриклеточно размножающимися патогенными микроорганизмами. Этот

тип активности Т-клеток назван *цитотоксичностью*, а сами клетки соответственно *цитотоксическими Т-лимфоцитами* (Тп). Как правило, распознавание антигена Т-клетками происходит только при том условии, что он презентирован на поверхности других клеток в ассоциации (комплексе) с молекулами МНС. В распознавании участвует специфичный к антигену Т-клеточный рецептор (ТсР), функционально и структурно сходный с той поверхностной молекулой иммунного рецептора, которая у В-клеток служит антигенсвязывающим рецептором.

Свои функции воздействия на другие клетки Т-лимфоциты осуществляют путем выделения растворимых белков — цитокинов, передающих сигналы другим клеткам, или путем прямых межклеточных контактов. Основные функции лимфоцитов представлены на рис. 10.

В развитии иммунного ответа кроме цитокинов участвует ряд молекул-переносчиков, в том числе выделяемые лимфоцитами антитела и различные белки сыворотки крови, обычно содержащиеся в ней в низкой концентрации. Эти белки называются *опсофинами*, так как их концентрация быстро нарастает при инфекционном процессе. Один из полимеров — это С-реактивный белок (СРР), называемый так за способность связываться с С-белком пневмококков. Благодаря такой способности фагоциты начинают более активно поглощать бактерии — такой процесс называют *опсонизацией*.

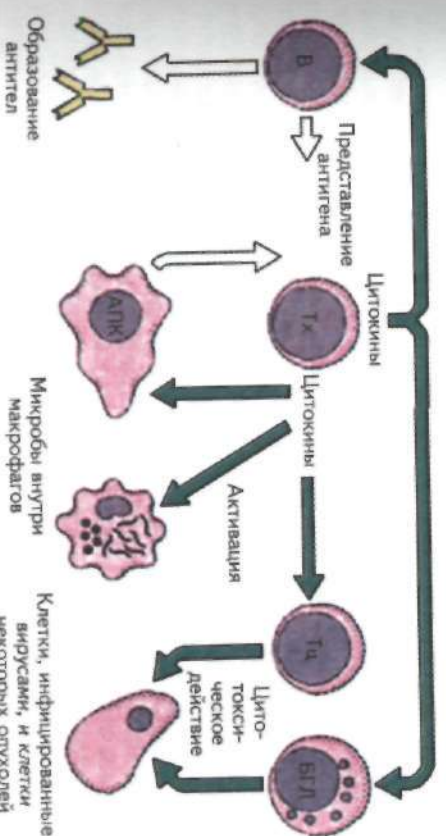


Рис. 10. Основные функции лимфоцитов.

В-клетки образуют антитела, а Т-хелперные (Тх) клетки — цитокины, регулирующие иммунный ответ. В стимуляции Тх для синтеза цитокинов участвуют клетки, презентующие антигены (АПК), и выделяющие ту же функцию В-клетки. Активированные макрофаги приобретают способность уничтожать поглощенные ими микробы. Цитотоксические Т-лимфоциты (Тп) и большие зернистые (грануляриные) лимфоциты (БЛГ) могут распознавать и уничтожать клетки-мишени самого организма.



Цитотоксические клетки распознают и уничтожают инфицированные клетки организма. Цитотоксичностью, направленной на другие клетки организма, обладает ряд клеток иммунной системы. Наиболее важны из них, вероятно, Тх-клетки.

Большинство зернистых (гранулярных) лимфоцитов (БГЛ). Эта популяция лимфоцитов, как и Т-клетки, способна распознавать те изменения клеточной поверхности, которые возникают при злокачественном перерождении или вирусной инфекции. Большие гранулярные лимфоциты поражают такие клетки-мишени, но кроме того, они в отличие от цитотоксических Т-лимфоцитов весьма эффективно распознают клетки, поверхность которых вовсе лишена своих молекул МНС или утратила их частично. Прежде цитотоксическое действие БГЛ рассматривали как активность нормальных киллерных (НК) клеток. Макрофаги и БГЛ распознают и уничтожают также некоторые клетки-мишени (или патогенные микроорганизмы), если поверхность последних покрыта связанными с ней специфическими антителами.

Озониофильные полиморфно-ядерные гранулоциты, или озониофилы. Это специализированная популяция лейкоцитов, способных поражать крупные внеклеточные паразитические организмы, например простосомы.

Все типы цитотоксических клеток поражают свои мишени, выделяя вблизи них растворимое внутриклеточных гранул и другие, не запасаемые в гранулах молекулы.

Вспомогательные клетки, регулирующие восстановление. Ряд других клеток иммунной системы участвует в восстановительной реакции, основная цель которой — привлечение лейкоцитов и растворимых медиаторов иммунитета к очагу инфекции.

Вазофильные сегментоядерные гранулоциты и тучные клетки. Эти клетки заполнены гранулами, в которых содержатся различные медиаторы, выделяющиеся при высвобождении в окружающую ткань. Выделение медиаторов происходит при активации базофилов и тучных клеток. Эти клетки могут также синтезировать и выделять ряд медиаторов, регулирующих иммунный ответ. Тучные клетки располагаются во всех тканях вблизи кровеносных сосудов и воздействуют посредством некоторых своих медиаторов на клетки сосудистой стенки. Базофилы выполняют функции, сходные с таковыми тучных клеток, но в отличие от них циркулируют с кровью.

Кровяные пластинки (тромбоциты). Эти клетки, активированные в процессе свертывания крови или под действием комплексов антиген-антитело, также выделяют медиаторы воспаления.

### 2.3.1. ЛИМФОИДНЫЕ КЛЕТКИ

Естественно в первичных (центральных) лимфоидных органах — тимусе и постнатальном костном мозге — образуются зна-

чительное число лимфоцитов. Часть этих клеток мигрирует из кровотока во вторичные лимфоидные ткани — селезенку, лимфатический узел и лимфоидные образования слизистых оболочек. В органических тканях лимфоидные образуются примерно  $10^{12} \dots 10^{14}$  лимфоидных клеток, и лимфоидная ткань в целом составляет приблизительно 2 % общей массы тела. При этом на лимфоидные клетки приходится примерно 20 % циркулирующих с кровотоком лейкоцитов.

Многие зрелые лимфоидные клетки относятся к долгоживущим и могут длительно существовать в качестве клеток иммунной и памяти. Лимфоциты морфологически разнообразны, типичной клетки крови лимфоциты различаются как по размерам (диаметр 6...10 мкм), так и по морфологии. Варьируется соотношение величины ядра: объем цитоплазмы (Я:Ц), а также форма самого ядра. В цитоплазме некоторых лимфоцитов могут содержаться азурофильные гранулы.

При световой микроскопии мазков крови, окрашенных, например, гематологическим красителем Гимзы, можно обнаружить два морфологически различных типа циркулирующих лимфоцитов: 1) относительно мелкие клетки, в типичном случае лишенные гранул, с высоким соотношением Я:Ц; 2) более крупные клетки с меньшим соотношением Я:Ц, содержащие в цитоплазме гранулы и известные как большие гранулярные лимфоциты. (Не следует путать БГЛ с гранулоцитами, моноцитами или их предшественниками, также содержащими азурофильные гранулы.)

Похожие с Т-лимфоцитами крови. Большая часть их экспрессирует сФ-Т-клеточные рецепторы (сФ-Т-клетки) и может иметь один из двух описанных выше типов морфологии. Большинство (95 %) хелперных (Тх) и часть (50 %) цитотоксических (Тц) лимфоцитов относятся к малым лимфоцитам, лишенным гранул и имеющим высокое соотношение Я:Ц. Кроме того, в их цитоплазме присутствует особая структура, названная тельцем Голдса, — скопление первичных лизосом возле липидной капли. Тельце Голдса легко выявить при электронной микроскопии или цитохимически, методом определения лизосомальных ферментов. Менее 5 % Тх-клеток и примерно половина Тц-клеток имеют другой тип морфологии, характерный для БГЛ, с рассеянными по цитоплазме первичными лизосомами и хорошо развитым комплексом Гольджи.

Признаки больших гранулярных лимфоцитов свойственны также еще одной субпопуляции Т-лимфоцитов, а именно Т-клеткам с  $\gamma\delta$ -рецепторами ( $\gamma\delta$ -Т-клетки). В лимфоидных тканях эти клетки имеют дендритную (ветвистую) морфологию; при культивировании *in vitro* они способны прикрепляться к подложке, принимая в результате разнообразную форму.

Неактивированные В-лимфоциты крови. Эти клетки не содержат тельца Голдса и морфологически не сходны с большими гранулярными лимфоцитами; их цитоплазма в основ-

ном заполнена рассеянными монорибосомами. В кровотоке иногда можно наблюдать активированные В-клетки с развитым шероховатым эндоплазматическим ретикуломом.

**НК-клетки.** Нормальные киллерные клетки, подобно  $\gamma\delta$ -Т-клеткам и одной из субпопуляций Т<sub>H</sub>, имеют морфологично БЛГ. Однако при этом в их цитоплазме больше азурофильных гранул, чем у гранулярных Т-клеток.

**Экспрессия лимфоцитами поверхностных маркеров.** На поверхности лимфоцитов (как и других лейкоцитов) присутствует множество разнообразных молекул, которые могут служить метками (маркерами) различных субпопуляций. Значительная часть этих клеточных маркеров в настоящее время легко идентифицируется при помощи специфических моноклональных антител. Разработана систематизированная номенклатура маркерных молекул; в ней группы моноклональных антител, каждая из которых специфически связывается с определенной маркерной молекулой, обозначены символом CD (от англ. cluster designation — групповая метка). За основу CD-номенклатуры принята специфичность прежде всего мышиных моноклональных антител к лейкоцитарным антигенам человека. В создании этой классификации участвуют многие специализированные лаборатории разных стран. Для ее обсуждения проведена серия международных рабочих встреч, на которых удалось определить характерные наборы образцов моноклональных антител, связывающихся с лейкоцитами различных популяций, а также молекулярные массы выявляемых при этом маркеров. Моноклональные антитела со-впадающей специфичности связывания объединяют в одну группу, присваивая ей номер в системе CD. Однако в последнее время принято обозначать таким образом не группы антител, а маркерные молекулы, распознаваемые данными антителами.

В дальнейшем молекулярные маркеры стали классифицировать в соответствии с информативной, которую они несут об экспрессируемых ими клетках, например:

популяционные маркеры, которые служат характерным признаком данного цитопозитивского ряда, или линии; пример — маркер CD3, выявляемый только на Т-клетках;

дифференцировочные маркеры, экспрессируемые временно, в процессе созревания; пример — маркер CD1, который присутствует на развивающихся тимоцитах, но не на зрелых Т-клетках;

маркеры активации, такие, как CD25 — низкоаффинный Т-клеточный рецептор для фактора роста (ИЛ-2), экспрессируемый только на Т-клетках, активированных антигеном.

**Т-лимфоциты.** Т-лимфоциты различаются по своим антиген-распознающим рецепторам. Маркером, характеризующим линию Т-клеток, служит Т-клеточный рецептор для антигена (Т<sub>CR</sub>). Имеется два различных типа Т<sub>CR</sub>. И тот, и другой — гетеродимеры, состоящие из двух соединенных дисульфидными связями по-

липептидных цепей. Т<sub>CR</sub> первого типа образован цепями  $\alpha$  и  $\beta$ , второго типа, сходный по структуре, — цепями  $\gamma$  и  $\delta$ . Оба рецептора ассоциированы на клеточной поверхности с пятью полипептидами CD3-комплекса, образуя вместе с ним рецепторный комплекс Т-клетки (Т<sub>CR</sub>-CD3-комплекс).

Т-клетки экспрессируют либо  $\gamma\delta$ -, либо  $\alpha\beta$ -Т<sub>CR</sub> и подразделяются на субпопуляции CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, распознающие пептиды антигена в ассоциации с молекулами МНС класса I или II соответственно. Т-клетки CD4<sup>+</sup> можно далее разделить на субпопуляции Т<sub>H</sub>1 и Т<sub>H</sub>2 по набору образующих ими цитокинов. Четких данных о различии цитокиновых профилей у  $\gamma\delta$ -Т-клеток и у  $\alpha\beta$ -Т-клеток CD8<sup>+</sup> не получено.

Примерно 95 % Т-клеток CD4<sup>+</sup> и 50 % Т-клеток CD8<sup>+</sup> морфологически представляют собой малые негранулярные лимфоциты. Эти популяции можно дифференцировать дальше по фенотипической экспрессии CD28 и СТЛ-4 на функционально различные субпопуляции. Экспрессируемый Т-клетками CD4<sup>+</sup> маркер CD28 обеспечивает передачу стимулирующего сигнала активации при распознавании антигена. (В отсутствие такого сигнала контакт Т<sub>CR</sub> с антигеном может вызывать анеггию.)

Т-лимфоциты можно классифицировать также по профилю цитокинов. Функциональное разнообразие Т-клеток можно продемонстрировать, анализируя профили секреции цитокинов разными клонами Т-хелперов. У мыши и человека идентифицированы по две группы Т-клеточных CD4<sup>+</sup>-клонов. Субпопуляция Т<sub>H</sub>1 секретирует ИЛ-2 и ИФ $\gamma$ , а субпопуляция Т<sub>H</sub>2 — ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6 и ИЛ-10. Клетки Т<sub>H</sub>1 принимают участие в активации цитотоксических Т-лимфоцитов и в местных воспалительных реакциях. Следовательно, они важны для противоводействия организма внутренней вирусной, бактериальной или паразитарной инфекции. Клетки Т<sub>H</sub>2 более эффективны в стимуляции В-лимфоцитов к пролиферации и образованию антител, поэтому их функции связаны в первую очередь с защитой организма от микробов, размножившихся внеклеточно (гуморальный иммунитет).

Т-лимфоциты обладают рядом общих маркеров с клетками других линий. Ряд молекул экспрессируется на поверхности всех Т-клеток («пан-Т-клеточные маркеры»), а также на клетках других линий. Хороший пример — рецепторы для эритроцитов барана (CD2). В норме молекула CD2, связываясь с соответствующими лигандами, принимает участие в процессе активации Т-клеток вместе с Т<sub>CR</sub>-CD3-комплексом и другими гликопротеинами в составе мембран. Вместе с тем CD2 выявляется также у 75 % НК-клеток CD3. Другая участвующая в Т-клеточной активации молекула — это маркер CD5, экспрессируемый на всех Т-клетках и на одной из субпопуляций В-клеток. Молекула CD5 может связываться с CD72, но вопрос о ее роли в качестве физиологического лиганда В-клеток остается открытым. Маркер CD7 присутствует



ет почти на всех НК- и Т-клетках. Т-клетки мыши экспрессируют маркеры, сходные с обнаруженными на Т-клетках человека.

Получены очевидные функциональные доказательства существования антигенспецифических супрессорных Т-клеток (Тс), однако они, по-видимому, не составляют отдельной субпопуляции Т-клеток с исключительно супрессивной функцией. Доказано также, что Т-клетки, как CD4<sup>+</sup>, так и CD8<sup>+</sup>, способны подавлять иммунный ответ либо путем прямого цитотоксического действия на антигенпрезентирующие клетки, либо путем выделения «супрессивных» цитокинов, либо путем передачи сигнала отрицательной регуляции (при связывании STL-4 с его лигандами), либо посредством илиотипантилиотипических сетевых взаимодействий.

**В-лимфоциты.** От 5 до 15 % циркулирующих с кровью лимфоидных клеток — это В-лимфоциты, выделяемые по наличию поверхностных иммуноглобулинов. Молекулы иммуноглобулинов синтезируются конститутивно; они встроены в цитоплазматическую мембрану клетки и функционируют как антигенспецифические рецепторы. Такие рецепторы можно определить на клеточной поверхности, используя меченные флюорохромом антитела к иммуноглобулину.

**«Рецепторный комплекс» В-лимфоцитов.** Большинство В-клеток периферической крови человека экспрессирует на своей поверхности иммуноглобулины двух изотипов — IgM и IgD. На каждой отдельной В-клетке антигенсвязывающие центры у этих изотипов идентичны. Менее 10 % В-клеток циркулирующей крови экспрессируют IgG, IgA и IgE, но в определенных областях тела такие клетки встречаются с большей частотой; например, В-клеток, несущих IgA, много в слизистой оболочке кишечника. Ассоциируя с другими молекулами на поверхности В-клеток, иммуноглобулин образует антигенраспознающий рецепторный комплекс В-клетки. К этим другим, «вспомогательным», молекулам относятся соединенные дисульфидными связями гетеродимеры, состоящие из Igα (CD79a) и Igβ (CD79b). Эти гетеродимеры, взаимодействуя (подобно составным частям TcR-CD3-комплекса Т-клеток) с трансмембранными сегментами иммуноглобулинового рецептора, участвуют в процессе активации В-клеток.

Другие В-клеточные маркеры и субпопуляции. Большая часть В-клеток несет на поверхности антигены МНС класса II, которые важны для кооперативных (контактных) взаимодействий с Т-клетками. У мыши это антигены I-A или I-E, у человека — HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP. Выделяемые почти на всех В-клетках рецепторы для компонентов комплекса C3b (CR1, CD35) и C3d (CR2, CD21) вовлечены в процессы клеточной активации и, вероятно, хоминга. Взаимодействие CD19/CD21 с комплексом комплексом + антиген играет роль в активации В-клеток при участии антигенсвязывающего рецептора антител. На В-клетках имеются также Fc-рецепторы для экзогенного IgG

(FcγRII, CD32), передающие сигналы отрицательной регуляции для В-клеток.

Основные маркеры, используемые в настоящее время для идентификации В-клеток, — это CD19, CD20 и CD22. Известны также другие В-клеточные маркеры — CD72 и CD78. Маркер CD72 обнаружен на В-клетках мыши (Lyb-2) вместе с B220, представляющим собой высокомолекулярную (220 000) изоформу маркера CD45 (Lyb-5). Существенная роль в контактных взаимодействиях между Т- и В-клетками принадлежит маркеру CD40.

В-клетки можно разделить на две субпопуляции: В-1 (Mас-1<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>) и В-2 (Mас-1<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>). Большинство В-1-клеток экспрессирует маркер CD5 (Ly1), первоначально обнаруженный только на Т-клетках. Этот маркер ассоциирован с В-клеточным рецептором и может участвовать в регуляции процесса активации В-клеток. В-1-клетки спонтанно синтезируют так называемые нормальные антитела к определенным бактериальным антигенам, а также к аутоантигенам, таким, как ДНК, Fc-фрагмент IgG, фосфолипиды и белки цитоскелета.

Кроме общего с Т-клетками маркера CD5, В-клетки имеют собственные маркеры с другими клетками, например маркер CD40, который присутствует на некоторых дендритных клетках.

**Нормальные (естественные) клетки-киллеры.** Клетки, называемые нормальными киллерами (НК), составляют до 15 % лимфоцитов крови; они не экспрессируют ни Т-клеточных, ни В-клеточных антигенсвязывающих рецепторов.

**Фенотипические маркеры НК-клеток.** Большинство антигенов, выделяемых на поверхности НК при помощи моноклональных антител, присутствует также на Т-клетках и на моноцитах/макрофагах. В очищенных лимфоцитарных популяциях НК-клетки чаще всего выявляют с использованием моноклональных антител к CD16 (FcγRIII). Маркер CD16 участвует в одном из механизмов активации НК и экспрессируется также нейтрофилами, некоторыми разновидностями макрофагов и αγ-Т-клеток.

У гранулоцитов маркер CD16 связан с цитоплазматической мембраной посредством фосфатилилинозитогликана, тогда как НК, макрофаги и αγ-Т-клетки экспрессируют трансмембранную форму этой маркерной молекулы. Другой важный для идентификации маркер НК — это CD56, представляющий собой гомофильную молекулу межклеточной адгезии (N-CAM) из суперсемейства иммуноглобулинов. Неактивированные НК экспрессируют, кроме того, β-цепь рецептора к IL-2 (рецептор средней аффинности с молекулярной массой 70 000) и передающую сигнал γ-цепь, образуемую для рецепторов, связывающих IL-2 и другие цитокины. Разумеется, прямая стимуляция интерлейкином-2 вызывает активацию НК. Представляет интерес тот факт, что рецептор с молекулярной массой 70 000 экспрессируется также на всех Т-клетках, имеющих морфологию B11, а именно на γδ-Т-клетках и на части

ср-Т-клеток CD8<sup>+</sup>. Под влиянием ИЛ-2 все эти клетки, включая НК, приобретают неспецифическую цитотоксическую активность, превращаясь в клетки, известные под общим названием активированные лимфокином киллерные клетки (ЛАК). ЛАК-клетки оказывают цитотоксическое действие на свежесывленные клетки опухолей, причем спектр их мишеней гораздо шире, чем у неактивированных НК.

Функции нормальных клеток-киллеров. Функции НК — распознавание и уничтожение клеток некоторых опухолей, а также клеток, инфицированных вирусами. Механизм распознавания полностью пока не ясен. Субополуляции НК экспрессируют молекулы суперсемейства иммуноглобулинов, регулирующие их цитотоксическую активность. Продукты некоторых аллелей HLA класса I могут защищать клетки-мишени от НК, продукты других же, напротив, усиливают их цитотоксическое действие.

Нормальные клетки-киллеры способны также поражать клетки-мишени, нагруженные антигенами IgG, при участии своих рецепторов для IgG (FcγRIII, или CD16). Эта активность названа антилеглозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичностью (АЗКЦ). Активированные НК выделяют γ-интерферон (ИФγ) и другие цитокины (в частности, ИЛ-1 и GM-CSF), которые могут играть важную роль в регуляции гемопоэза и иммунного ответа.

Активация В- и Т-лимфоцитов. В- и Т-клетки активируются, связываясь со специфическими антигенами. Т-клеткам для этого требуется «увидеть» антиген связанным с молекулами МНС на антигенпрезентирующих клетках, тогда как В-клетки могут связываться с нативными антигенами, но для активации им необходима помощь Т-клеток (в случае некоторых полимерных антигенов или митогенных по своей природе молекул эта помощь В-клеткам не требуется).

Помимо специфичного связывания антигена рецепторами для эффективной активации Т- и В-клеток необходимо межклеточное взаимодействие с участием других компонентов поверхности, например, в случае Т-клеток, CD28. Индуцированная антигеном активация и дифференцировка Т- и В-клеток обычно происходит в лимфоидных тканях и может быть воспроизведена *in vitro* при культивировании лимфоцитов в присутствии активирующего агента. Такими агентами могут служить: антиген, распознаваемый поверхностным антигенсвязывающим рецептором клетки; моноклональные антитела к ТсР—CD3-комплексу и лектины (например, фитогемагглютинин (ФГА), конканавалин А (КонаА) и митоген лаконоса).

Лектины — это белки растительного и бактериального происхождения, связывающие углеводы. Некоторые из них способны активировать лимфоциты, перекрестно взаимодействуя с ВсР или ТсР, и служить митогенами (индукторами пролиферации). Считается, что митогенная стимуляция лимфоцитов *in vitro* довольно

близко воспроизводит активацию специфическими антигенами. Лектины ФГА и КонаА стимулируют Т-лимфоциты мыши и человека. Бактериальный липополисахарид (ЛПС) стимулирует В-клетки мыши, а митоген лаконоса вызывает пролиферацию и В- и Т-клеток человека.

Исследования *in vitro* с применением этих агентов показали, что активация Т- и В-клеток вызывает синтез цитокинов и рецепторов для них. Взаимодействие цитокинов с рецепторами индуцирует вступление клеток в цикл деления (пролиферация) и их последующее созревание с образованием эффекторных клеток или клеток иммунологической памяти. В условиях *in vitro* клетки памяти рециркулируют и в итоге расселяются по Т- и В-зависимым областям лимфоидных тканей, где они в дальнейшем остаются, сохраняя готовность к ответу при новой встрече с тем же антигеном.

Значение «вторых посредников». В результате взаимодействия покоящихся лимфоцитов с антигеном индуцируется цепь биохимических процессов, приводящих к образованию внутри В- или Т-клетки «вторых посредников». Эти посредники ответственны за последующие изменения на уровне генов. Как в Т-, так и в В-клетках в передаче сигнала активации участвует гуанозинтрифосфатсвязывающий (ГТФ-зависимый) белок (G-белок), который стимулирует метаболизм фосфатидилинозитола. В результате образуются два вторых посредника — инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3) и диацилглицерол (DAG). Посредник IP3 индуцирует выход ионов Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо, а DAG активирует протеинкиназу С, которая вместе с другими киназами фосфорилирует ряд компонентов плазматической мембраны, что приводит к появлению факторов транскрипции и последующей экспрессии определенных генов. Таким образом, сразу после контакта Т-лимфоцитов с антигеном на их поверхности экспрессируется ряд молекул, в том числе gp39 и рецептор для ИЛ-2. Дальнейшие межклеточные взаимодействия с участием этих молекул вызывают пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов.

Значение дифференцировки В-лимфоцитов. В-лимфоциты дифференцировка В-лимфоцитов приводит к образованию плазматических клеток и клеток иммунологической памяти. После активации митогеном или антигеном Т- и В-клетки претерпевают характерные ультраструктурные изменения, превращаясь в антропообразующие клетки (АОК), которые *in vitro* развиваются за счет в основном дифференцированных плазматических клеток. В некоторых В-лимфоцитах не образуется цистерн шероховатого эндоплазматического ретикулаума (ЭР). Такие клетки присутствуют в центрах размножения внутри лимфоидных фолликулов; они называются центральными клетками фолликула, или центроцитами.



Как показывает световая микроскопия, цитоплазма плазматических клеток базофильна, т. е. обладает средством к основным красителям. Это свойство цитоплазмы объясняется присутствием в ней больших количеств РНК, обеспечивающей синтез антител на рибосомах шероховатого ЭР. Эти клетки редко появляются в кровотоке, составляя не больше 0,1 % циркулирующих лимфоцитов. В норме плазматические клетки встречаются только во вторичных лимфоидных органах и тканях, и, кроме того, их довольно много в красном костном мозге. Антитела, образуемые одной плазматической клеткой, обладают одной антигенной специфичностью и принадлежат к одному изолипу иммуноглобулинов. Их можно выявить в цитоплазме этих клеток при помощи меченных флюорохромом антиглобулиновых антител. Плазматические клетки имеют короткую продолжительность жизни; просуществовав лишь несколько дней, они погибают в процессе апоптоза.

Маркеры активации на лимфоцитах. Активация Т- и В-клеток вызывает синтез *de novo* ряда поверхностных маркеров и увеличение экспрессии других.

К этим маркерам активации относятся молекулы межклеточной адгезии, обеспечивающие более эффективное взаимодействие активированных клеток с другими, а также рецепторы факторов роста и дифференцировки, необходимые для постоянной пролиферации и созревания клеток. Один из них — рецептор для ИЛ-2 (ИЛ-2Р), экспрессируемый Т-клетками после активации; он состоит из трех субъединиц. В состоянии покоя Т-клетки постоянно экспрессируют  $\gamma$ -цепь (CD134) этого рецептора, а некоторые из них (b11) образуют также его  $\beta$ -цепь (CD122). Активация вызывает синтез  $\alpha$ -субъединицы ИЛ-2Р (CD25) и образование гетеромерного высокоаффинного ИЛ-2Р. Временно активация Т-клеток вызывает также экспрессию gp39 (CD40L) и рецепторов трансферрина (CD71, важен для пролиферации), CD38 и CD69. Эти маркеры появляются в ранней фазе онтогенеза Т-клеток, но исчезают в ходе внутриклеточного развития. Поздними маркерами активации Т-клеток служат молекулы МНС класса II. На Т-клетках, в частности Т-клетках иммунологической памяти, экспрессируется как поздний маркер активации CD29 ( $\beta$ -цепь VLA). Поэтому функцию «памяти» субпопуляции Т-клеток CD4<sup>+</sup>CD29<sup>+</sup> можно интерпретировать как индуцированное активацией увеличение числа различных молекул межклеточной адгезии, которые облегчают взаимодействие этих Т-клеток с другими, если организм встречается с данным антигеном вновь.

К маркерам активации В-клеток относятся высокоаффинный ИЛ-2Р и другие рецепторы для факторов роста и дифференцировки, таких как ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-6.

К маркерам активации НК-клеток относятся молекулы МНС класса II.

## 2.3.2. МОНОНУКЛЕАРНЫЕ ФАГОЦИТЫ

Система мононуклеарных фагоцитов выполняет две основные функции, осуществляемые двумя разными типами клеток костного мозга происхождения:

«профессиональные» макрофагами, главная роль которых — устранение коррумпированных антигенов; антигенпрезентирующими клетками (АПК), роль которых заключается в поглощении, прощесинте и представлении антигена Т-клеткам. Ранее тканевые макрофаги вместе с эндотелиальными клетками функционально объединяли под названием ретикулоэндотелиальной системы.

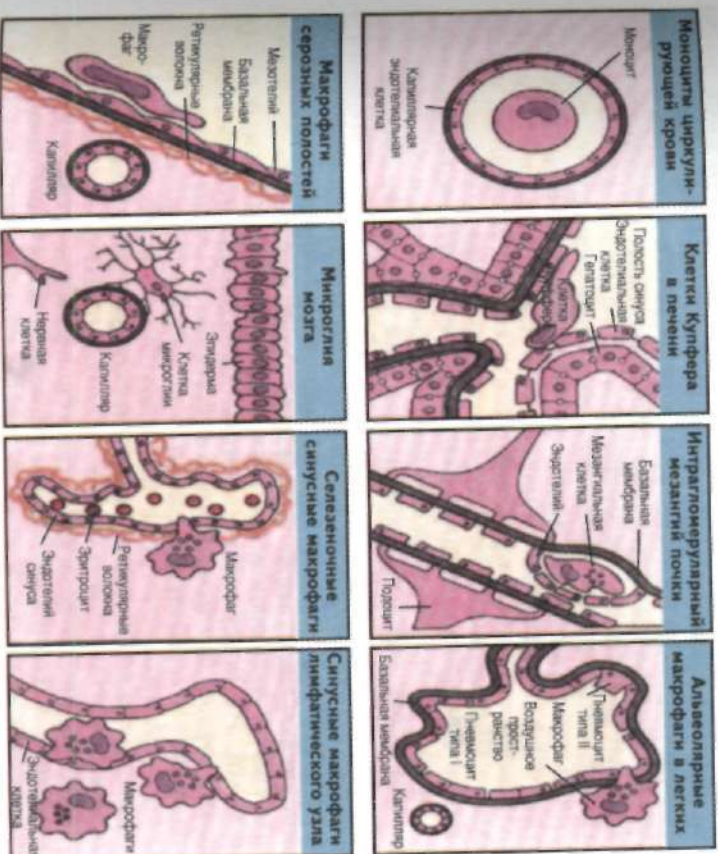


Рис. 11. Система мононуклеарных фагоцитов.

В систему мононуклеарных фагоцитов входят моноциты крови, оседлые фагоциты тканей и макрофаги, прикрепленные к эндотелиальной выстилке кровеносных капилляров. Оседлые макрофаги известны как клетки Купфера, а то же время при локализации в почках они называются интрагломерулярными мезангиальными клетками. Альвеолярные макрофаги и фагоциты синусов тканей (например, перитонеальные) относятся к «блуждающим». Мозговая микроглия — это клетки, проникающие в нервную ткань в момент рождения и дифференцировавшиеся в фиксированные фагоциты. (Реальные соотношения размеров клеток на схеме не соблюдены.)



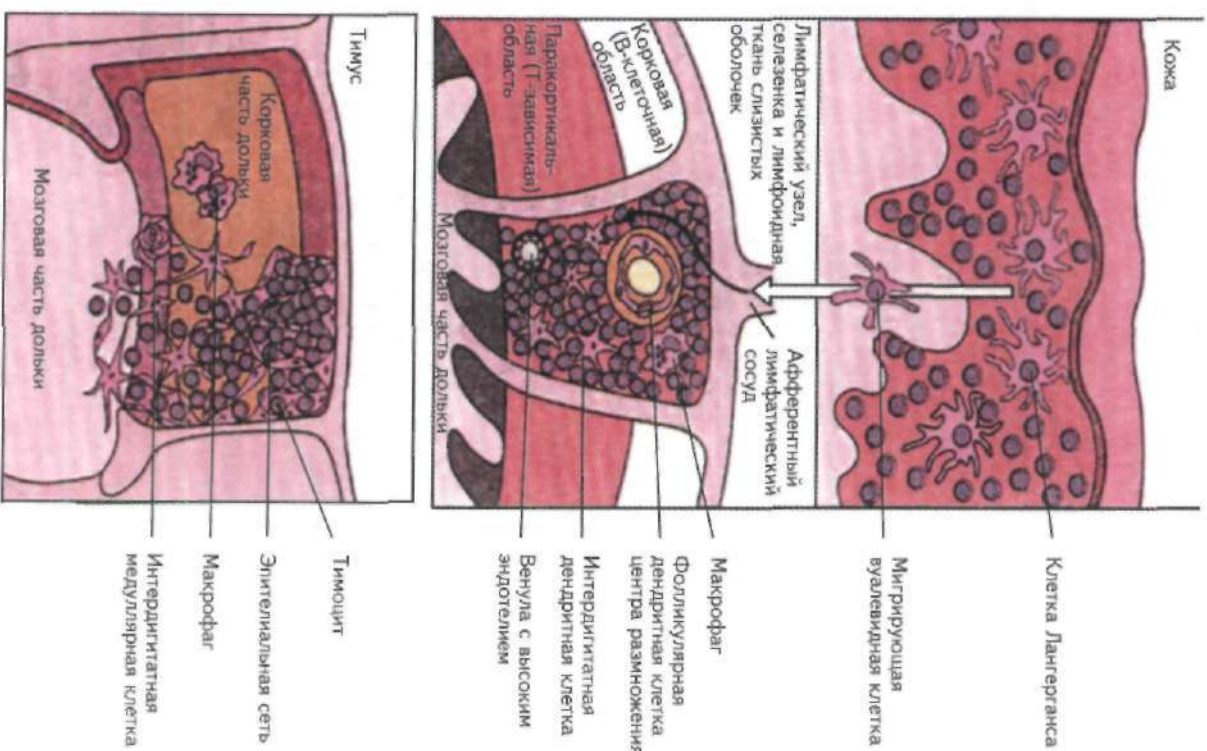


Рис. 12. Антиагреггационные свойства

Антигенпрезентирующие клетки (АПК) костномозгового происхождения являются главными факторами в лимфоцитарной ткани, коже и слизистых оболочках. В эпителии они имеют вид клеток Лангерганса с характерными, напоминающими тельца Януса, безъершковые трикуляты. В эпителии, эти клетки, богатые белками МНС класса II и наружные процессы, являются антигенами, мигрируют по дифференциальным лимфатическим сосудам (при этой локализации они называются тучными клетками) в паракортикальные (Т-зависимые) области регионарных лимфатических узлов. Здесь уже как антигенпрезентирующие клетки они контактируют с Т-клетками и презентируют им антиген. Экспонирование антигена В-клеткам происходит на поверхности дендритных клеток (ФК) в центрах размножения внутри В-клеточных фолликулов. В качестве АПК действуют также макрофаги и натуральные киллеры (НК-клетки). В качестве АПК действуют также некоторые маркеры и наружной кортикальной области и кровеносного синуса лимфатических узлов. В тучных АПК представлены интердигитальные (переплетенными отростками) клетками мозговой зоны

ваным Т-клеткам. Не относящиеся к иммунной системе клетки организма в норме не экспрессируют белки МНС класса II, но при индукции цитокинами, такими, как ИФγ и ФНОα, некоторые типы соматических клеток, например кератиноциты, тиреоциты и эндотелиоциты, способны синтезировать продукты МНС класса II и презентировать антигены. Индукция этой «неуместной» экспрессии, вероятно, представляет собой элемент патогенеза аутоиммунных заболеваний и хронических воспалительных процессов.

#### 2.3.4. ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ, ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ И ТРОМБОЦИТЫ

Полиморфно-ядерные гранулоциты (часто называемые просто гранулоцитами) — это базофилы, эозинофилы, но в основном нейтрофилы ПМН, которые высвобождают костный мозг от скорости примерно 7 млн/мин. По сравнению с моноцитами и макрофагами, которые могут сохраняться месяца или годы, гранулоциты — короткоживущие (всего 2...3 сут) клетки. Они составляют 60...70 % общего числа лейкоцитов крови и содержатся также в тканях. Подобно моноцитам, ПМН могут прилипать к эндотелиальным клеткам, выстилающим кровеносные сосуды («краевое стояние») и покидать кровоток, протискиваясь между эндотелиальными клетками (рис. 13). Этот процесс известен как эндотелиальная клетка ПМН вызывают хемотаксис (хемотаксис), такие, как ИЛ-8, и опосредуют гранулоцитарные рецепторы, взаимодействующие с липидами на эндотелиальных клетках.

Гранулоциты не обладают какой-либо «врожденной» антигенной специфичностью, но им принадлежит важнейшая роль (обычно вместе с антигенами и комплексом). Главная функция новой воспалительной реакции на инфекцию. Основная функция этих клеток — фагоцитоз. Их значение становится очевидным на примере больных с пониженным содержанием гранулоцитов в крови или в случаях редко встречающегося наследственного им-



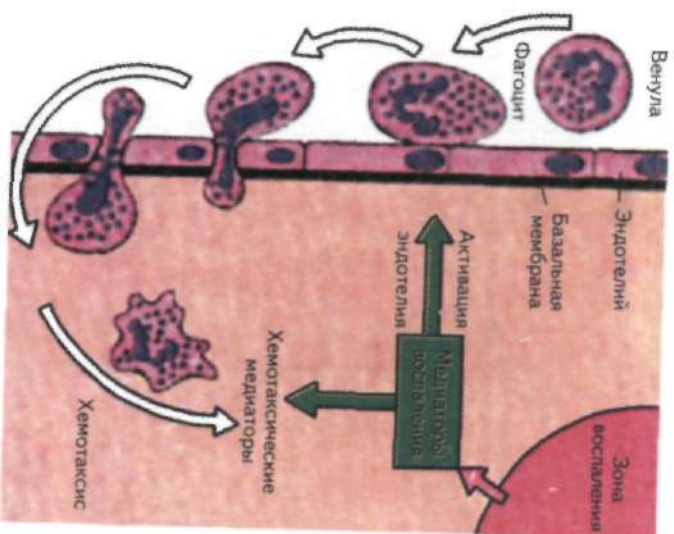


Рис. 13. Хемотаксис.

Инфекционный агент вызывает в зоне воспаления повреждение тканей и активацию комплекса. Это, в свою очередь, приводит к высвобождению медиаторов воспаления (например, одного из наиболее важных хемотаксических пептидов C5a — фрагмента пятого компонента комплекса). Медиаторы воспаления диффундируют к близлежащим венулам, где вызывают прилипание фагоцитов к эндотелию. Прилипшие фагоциты проникают своими псевдоподиями между эндотелиальными клетками и рвутся по градиенту концентрации базальной мембраны. Затем они попадают в кровеносные сосуды и движутся по градиенту концентрации хемотаксических медиаторов к зоне воспаления (хемотаксис).

мундодефицита, при котором ПАН не способны митрировать из сосудов в ответ на хемотаксический стимул; обе ситуации характеризуются повышенной восприимчивостью к инфекции.

**Нейтрофилы.** Эти лейкоциты составляют более 95 % циркулирующих гранулоцитов; для них характерны многодолевчатое (сегментированное) ядро и диаметр 10...20 мкм (рис. 14).

Хемотаксис нейтрофилов вызывают фрагменты белков, образующиеся в результате активации компонента (например, факторы фибринолитической и кининовой систем, а также продукты лейкоцитарного, тромбоцитарного и бактериального происхождения. Под действием хемотаксических стимулов осуществляют «краевое стояние» (прилипание к эндотелиальным клеткам) и диapedез нейтрофилов.

Нейтрофилы обладают большим набором антибиотических белков, которые хранятся в гранулах двух типов. Первичные (азурофильные) гранулы — это лизосомы, содержащие кислые гидролазы, миелопероксидазу и мурамидазу (лизоцим). Во вторичных (специфических) гранулах помимо лизоцима обнаружен лактоферрин. Кроме ферментов и лактоферрина, в этих гранулах содержатся в высоких концентрациях антибиотические белки — дефензины, септроцилины, кателицилины и белок, индуцирующий проницаемость бактериальных клеток. Фагоцитированные нейтрофилами микробы находятся в вакуолях (называемых фagosомами), которые сливаются с лизосомами, превращаясь в фagosолизосомы.

При активации иммунными комплексами, опосредованной Feγ-рецепторами, нейтрофилы способны также высвобождать содержимое гранул и цитотоксические соединения во внеклеточное пространство. Вполне вероятно, что именно этот механизм лежит в основе патогенеза болезней иммунных комплексов (типичувствительность III типа).

**Эозинофилы.** Эозинофилы крови обычно содержат двухольчатое ядро и множество цитоплазматических гранул, которые окрашиваются кислыми красителями, например эозином. В крови здорового, не страдающего аллергией организма эозинофилы составляют около 2...5 % всех лейкоцитов. Они, по-видимому, способны фагоцитировать и уничтожать поглощенные микробные клетки, хотя это и не относится к их прямым функциям. Гранулы зрелых эозинофилов — это окруженные мембранами клеточные

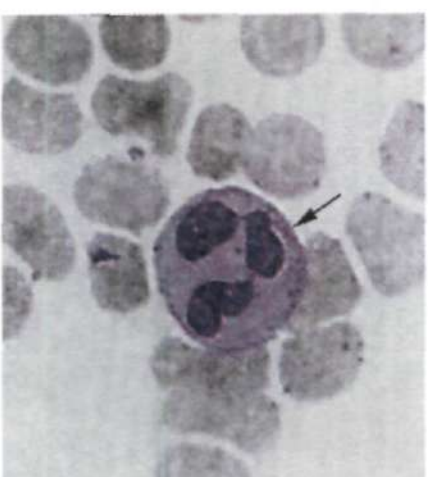


Рис. 14. Морфология нейтрофила.

Зрелый нейтрофил с дольчатым (сегментированным) ядром в мазке крови. Окрашивание по Гимзе.  $\times 1500$

органеллы с «кристалловидной» сердцевинной, заметные на фоне окружающего матрикса благодаря их высокой электронной плотности.

Определенные стимулы вызывают дегрануляцию эозинофилов, т. е. сливание гранул с цитоплазматической мембраной и высвобождение их содержимого во внеклеточную среду. Реакция дегрануляции — это один из механизмов использования эозинофилами токсичного содержимого своих гранул для уничтожения крупных мишеней, которые не поддаются фагоцитозу. Другой механизм состоит в образовании токсичных реакционноспособных метаболитов кислорода. Оба механизма, вероятно, составляют основу противогельминтного иммунитета, в котором, как предполагается, эозинофилам принадлежит особая роль.

Привлечение эозинофилов к месту инвазии паразита происходит за счет высвобождения Т-лимфоцитами, тучными клетками и базофилами особых продуктов, таких как анафилактический фактор хемотаксиса эозинофилов (ФХЭ-А). Они связываются с поверхностью гелимина, опсонизированной специфичными антителами изотипа IgG или IgE, и в процессе дегрануляции выделяют токсин, названный основным белком. Этот токсин содержится в кристалловидной сердцевине эозинофильной гранулы. Матрикс гранулы содержит другое токсичное вещество — катиназин и арилульфатазу, которые инактивируют продукты выделения тучных клеток — гистамин и фактор анафилакса, вызывающий замедленную реакцию (ФЭР-А). Таким образом, выделяемые эозинофилами продукты подавляют воспалительную реакцию и, в частности, митрично гранулоцитов в очаг инвазии.

**Базофилы и тучные клетки.** Базофилы присутствуют в циркулирующей крови в очень незначительном количестве, менее 0,2 % общего числа лейкоцитов. Тучные клетки вовсе не встречаются в циркуляции и по ряду свойств отличаются от базофилов.

Известны два вида тучных клеток — тучные клетки слизистых оболочек и тучные клетки соединительной ткани. Пролиферация первых, в отличие от вторых, зависит, по-видимому, от Т-лимфоцитов. Оба вида тучных клеток видны при световой микроскопии препаратов, окрашенных основными красителями. В цитоплазме зрелых базофилов крови присутствуют неравномерно распределенные и окруженные мембранами гранулы. Гранулы базофилов и тучных клеток содержат гепарин, ФЭР-А, гистамин и ФХЭ-А. Часто тот или иной аллерген (антиген, ставший причиной аллергической реакции) служит стимулом дегрануляции тучных клеток или базофилов. Для этого он должен перекрестно «сшить» соседние молекулы IgE, связанные с высокоаффинными рецепторами для IgE (FcεR1) на плазматической мембране тучной клетки или

базофила. В результате дегрануляции происходит мгновенное высвобождение всего содержимого гранул. Сначала гранулы сливаются между собой внутри цитоплазмы, затем их содержимое выбрасывается из клетки. Секретируемые в результате дегрануляции медиаторы, например гистамин, вызывают патологические проявления аллергии, но, с другой стороны, играют положительную роль в антипаразитарном иммунитете, усиливая воспалительную реакцию.

**Тромбоциты (кровяные пластинки).** Тромбоциты кроме свертывания крови участвуют также в иммунном ответе, в частности воспалительных реакциях. Они образуются из костномозговых мегакариоцитов и содержат гранулы. У взрослого человека ежедневно точно появляются 10<sup>11</sup> новых тромбоцитов; в среднем 30 % этих клеток депонируются в селезенке. Тромбоциты экспрессируют белки MHC класса I, рецепторы для IgG (FcγRII; CD32) и низкоаффинные рецепторы для IgE (FcεRI; CD23). Кроме того, метакриоты и тромбоциты несут рецепторы для фактора VIII свертывания крови и другие функционально важные молекулы, такие как комплекс Grb1b/IIIa (CD41) и комплекс Grb1b/Grb1x (CD42). Первый из них — это циталезин, ответственный за связывание с фибриногеном, фибронектином и витронектином. Оба эти комплекса представляют собой еще и рецепторы для фактора Виллебранда. Имется также дополнительный рецептор к витронектину, CD51. И рецепторы, и молекулы адгезии важны для активации тромбоцитов. В случае повреждения эндотелия они прилипают к субэпителиальной поверхности поврежденной сосудистой стенки, образуя агрегаты. При этом из тромбоцитарных гранул двух типов высвобождается их содержимое, в том числе серотонин и фибриноген, что приводит к повышению проницаемости капилляров, активации компонента и, вследствие этого, к привлечению лейкоцитов.

## 2.4. АНТИТЕЛА И КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ДЛЯ НИХ

- Циркулирующие антитела распознают антиген в крови и в тканевой жидкости.
- У большинства видов млекопитающих пять классов антигенов — IgG, IgA, IgM, IgD и IgE.
- Основная структурная единица иммуноглобулинов состоит из двух легких и двух тяжелых цепей. Классы различаются между собой тяжелыми цепями. IgA и IgM — это олигомеры основной четырёхцепочечной единицы.
- Цепи иммуноглобулинов свернуты в несколько глобулярных структур, называемых доменами; легкие цепи образуют по два домена, тяжелые — четыре или пять в зависимости от класса иммуноглобулина.



• При помощи протеолитических ферментов можно получать фрагменты иммуноглобулинов для исследований либо лимфических цепей. Папанн расщепляет молекулу IgG на три фрагмента — два Fab (антигенсвязывающих) и один Fc; пепсин отщепляет крупный F(ab)<sub>2</sub>-фрагмент, содержащий оба антигенсвязывающих центра.

• Антигенсвязывающие центры образованы гипервариабельными (V) участками цепей иммуноглобулинов. В V-доменах любой легкой или тяжелой цепи имеется по три таких участка. Сверхывание группировки на выступающих частях молекулы, образуя два антигенсвязывающих центра в каждой четырехцепочечной единице.

• Все антитела несут две функции. Кроме связывания антигена они осуществляют одну или несколько эффекторных функций. Структурные участки молекулы иммуноглобулина, ответственные за эффекторную активность (например, за активацию комплемента или связывание с клетками), пространственно удалены от антигенсвязывающих центров и называются главным образом в Fc-области.

• Рецепторы для иммуноглобулинов присутствуют на поверхности мононуклеарных лейкоцитов, нейтрофилов, нормальных имолейству с Fc-областью иммуноглобулинов разных типов. Взаимодействие Fcγ-рецепторов относится к молекулам суперсемейства иммуноглобулинов и имеет два или три внеклеточных иммуноглобулиноподобных домена.

**Основная функция специфического иммунного ответа** — это специфическое распознавание чужеродных антигенов. В распознавании участвуют молекулы двух разных типов — иммуноглобулины и T-клеточные антигенраспознающие рецепторы (TcR) (рис. 15). Структурное разнообразие этих молекул, благодаря которому они способны распознавать множество самых разных антигенов, оникает в результате многочисленных генных рекомбинаций.

Имуноглобулины представляют собой группу гликопротеинов, которые содержатся в плазме крови и в тканевой жидкости всех млекопитающих. Некоторые иммуноглобулиновые молекулы структурно связаны с плазматической мембраной В-лимфоцитов и функционируют как антигенспецифические рецепторы. Другие (антитела) присутствуют в плазме или в лимфе как свободные молекулы. Синтез антител осуществляют В-клетки, но для этого необходим контакт с антигеном и вызванное им созревание В-клеток в антителообразующие клетки (АОК). К АОК относятся, в частности, секреторные значительные количества антител плазматические клетки (так первоначально пистологи назвали АОК, выявляемые в крови и тканях). Мембраносвязанные иммуногло-

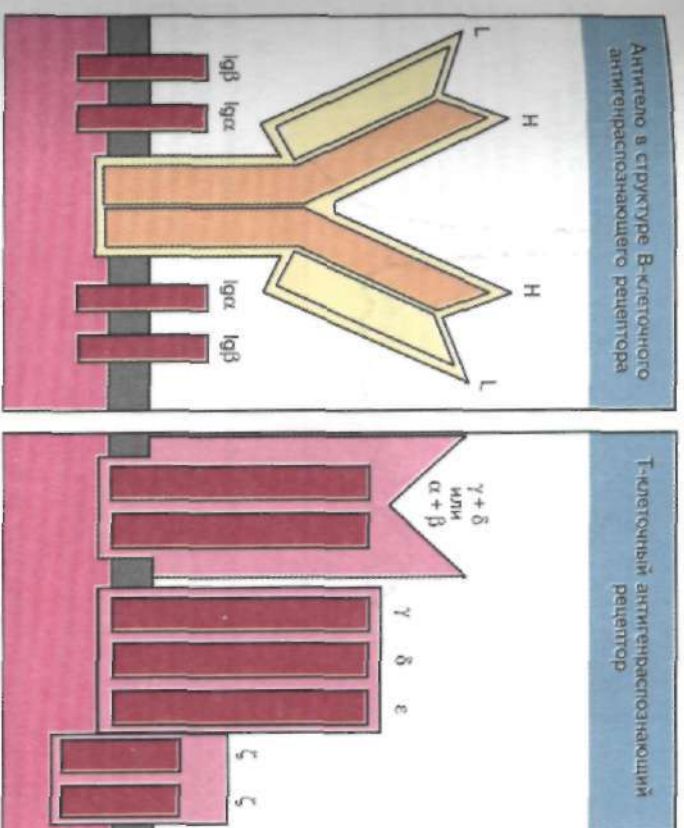


Рис. 15. Молекулы, распознающие антиген (принцип строения).

Антигенраспознающие рецепторы T- и В-клеток проникают, вероятно, от общего филогенетического предшественника и принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов. Основную часть В-клеточного рецептора образуют две одинаковых тяжелых (H) и две одинаковых легких (L) цепи. С основной частью рецептора непосредственно связаны дополнительные компоненты (Igα и Igβ), по-видимому, соединяющие его с путями внутриклеточной передачи сигнала. Циркулирующие антитела структурно подобны основной части этих В-клеточных рецепторов, но лишены их трансмембранных и внутрицитоплазматических сегментов. Антигенсвязывающий центр T-клеточного рецептора состоит из одной α-цепи и одной β-цепи (или одной γ- и одной δ-цепи), которые ассоциированы с четырьмя структурно отличными от них трансмембранными пептидами (γ, δ, ε и ζ).

булины незрелых В-клеток (предшественников) имеют ту же самую антигенсвязывающую специфичность, что и антитела, образующие зрелыми АОК.

#### 2.4.1. ИМУНОГЛОБУЛИНЫ — ОСОБОЕ СЕМЕЙСТВО БЕЛКОВ

У большинства высших млекопитающих обнаружено пять классов иммуноглобулинов — IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, которые различаются по размерам молекул, заряду, аминокислотному составу и содержанию углеводов.



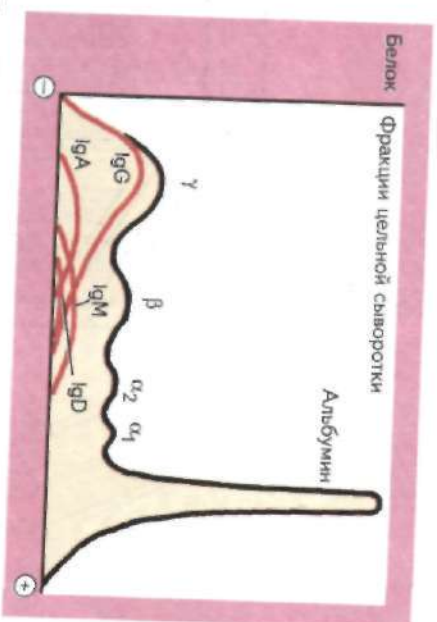


Рис. 16. Распределение основных изотипов иммуноглобулинов.

Электрофоретическая картина сыворотки крови, показывающая распределение четырех основных классов иммуноглобулинов. В электрическом поле происходит разделение сывороточных белков по подвижности заряду их молекул на фракции  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  и  $\gamma$  в зависимости от подвижности (IgE здесь количественно). Класс IgG наиболее концентрирован в сыворотке не представляет мундоглобулинов имеют более узкий интервал подвижности, главный образцов в  $\beta$ - и «быстрых»  $\gamma$ -области электрофоретической.

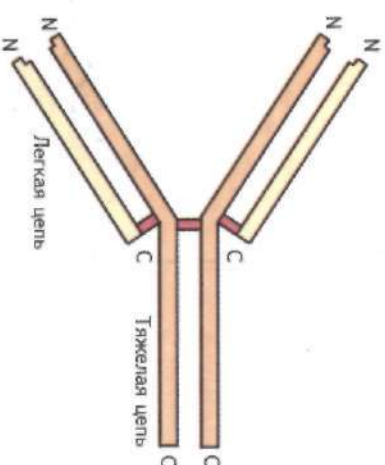
Помимо различий между классами, существует и весьма значительная гетерогенность в пределах каждого класса. Так, по электрофоретическим свойствам иммуноглобулины настолько разнообразны, что встречаются во всех фракциях нормальной сыворотки, от  $\alpha$  до  $\gamma$  (рис. 16).

Иммуноглобулины — бифункциональные молекулы. Каждая молекула предназначена для выполнения двух функций. Одна область ее молекулы предназначена для связывания с антигеном, другая осуществляет так называемые эффекторные функции. К ним относятся связывание иммуноглобулина с тканями организма, различными клетками иммунной системы, определенными фагоцитарными клетками и первым компонентом комплемента (C1q) при активации этой системы по классическому пути.

Принадлежность иммуноглобулина к определенному классу и подклассу определяется структурой тяжелой цепи. Основная структурная единица иммуноглобулина любого класса состоит из двух одинаковых легких и двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей, удерживаемых вместе дисульфидными связями (рис. 17). От глобулина к тому или иному классу и подклассу. Так, у человека четыре подкласса IgG (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) имеют тяжелые цепи соответственно  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$  и  $\gamma_4$ ; все они выделяются иммунохимически как  $\gamma$ -цепи, но несущественно отличаются друг от друга.

Рис. 17. Структура основной четырехцепочечной единицы молекулы иммуноглобулина

Основная структурная единица иммуноглобулина состоит из двух одинаковых легких и двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями (красные линии). Обратите внимание на положение аминоконцевых (N) и карбоксиконцевых (C) участков пептидных цепей



К 1-, 2-, 3- и 4-му подклассам IgG относятся соответственно около 66, 23, 7 и 4 % общего числа молекул этого класса. Известны также два подкласса IgA (IgA1 и IgA2). Разнообразие классов и подклассов иммуноглобулинов обусловлено изотипической изменчивостью их молекул.

В процессе эволюции подклассы иммуноглобулинов возникли, по-видимому, позже классов. Поэтому подклассы IgG человека очень сильно отличаются от четырех подклассов IgG, идентифицированных у мыши.

У каждого класса иммуноглобулинов свой набор функций. Все иммуноглобулины — это гликопротеиды; содержание углеводов в них варьируется от 2...3 % у IgG до 12...14 % у IgM, IgD и IgE. Физико-химические свойства иммуноглобулинов приведены в таблице 1.

**IgG.** Это главный изотип иммуноглобулинов нормальной сыворотки; на его долю приходится 70...75 % общего количества сывороточных иммуноглобулинов. Молекула IgG представляет собой четырехцепочечный мономер с коэффициентом седиментации 7S и молекулярной массой 146 000. При этом белки IgG3 несколько крупнее белков других подклассов из-за большей по размерам  $\gamma_3$ -цепи. Иммуноглобулины класса G равномерно распределены между внутри- и внесосудистым пулами и составляют большинство антител вторичного иммунного ответа, а также основную часть антитоксиков. Кроме того, именно материнские IgG обеспечивают невосприимчивость новорожденного к инфекциям в первые несколько месяцев жизни. У человека антитела всех подклассов IgG проникают через плаценту в организм плода, создавая напряженный пассивный иммунитет на весь неонатальный период. У млекопитающих тех видов, для которых характерна перелача материнского иммуноглобулина потомству только после рождения, например у свиньи, IgG, поступающий с молоком, избирательно проникает из желудочно-кишечного тракта в кровоток новорожденного.



# 1. Физико-химические свойства иммуноглобулинов

Свойства	Источники иммуноглобулинов									
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	sIgA	IgD	IgE
Тяжелая цепь	$\gamma_1$	$\gamma_2$	$\gamma_3$	$\gamma_4$	$\mu$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\alpha_1/\alpha_2$	$\delta$	$\epsilon$
Средняя кон-центрация в сыворотке, мг/мл	9	3	1	0,5	1,5	3,0	0,5	0,05	0,03	0,00005
Коэффициент седиментации	7S	7S	7S	7S	19S	7S	7S	11S	7S	8S
Молекулярная масса ( $\times 10^6$ )	146	146	170	146	970	160	160	385	184	188
Время полу-жизни, сут.	21	20	7	21	10	6	6	Нет	3	2
Внутрисосу-листый путь, %	45	45	45	45	80	42	42	Следы	75	50
Содержание углеводов, %	2...3	2...3	2...3	2...3	12	7...11	7...11	7...11	9...14	12

**Примечание.** Иммуноглобулины каждого класса — IgG, IgM, IgA, IgD и IgE — имеют свой характерный тип тяжелой цепи —  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  соответственно. Внутри некоторых классов существуют разные варианты тяжелых цепей, определяющие разделение класса на подклассы. Например, путь IgG человека включает четыре подкласса, различия между которыми состоят в строении  $\gamma$ -цепи. Классы (изолипы) иммуноглобулинов различаются по свойствам. Примечательно, что в выделяемых организмом IgA представлен секреторной формой (sIgA) — димером, соединенным с дополнительной пептидной цепью (она названа секреторным компонентом). Концентрация sIgA в сыворотке крови очень низкая, тогда как в кишечном соке может быть весьма значительной.

**IgM.** К этому классу относится примерно 10 % общего пула иммуноглобулинов сыворотки крови. Молекула IgM представляет собой пентамер основной четырехцепочечной единицы. Отдельная тяжелая цепь имеет молекулярную массу 65 000, а вся молекула — 970 000. Антитела этого класса содержатся преимущественно во внутрисосудистом пуле иммуноглобулинов и диминируют в качестве «ранних» антител, чаще всего при иммунном ответе на сложные по антигенному составу патогенные микроорганизмы.

**IgA.** Белки этого класса составляют 15...20 % общего количества иммуноглобулинов в сыворотке крови человека, где они больше чем на 80 % представлены в виде мономера — четырехцепочечной единицы. Однако в сыворотке большинства других млекопитающих IgA присутствует большей частью в полимерной форме, чаще всего как димер четырехцепочечной единицы. IgA — это главный класс иммуноглобулинов серозно-слизистых секретов, таких как слюна, молоко и мочеполовых путей.

Секреторные IgA (sIgA) относятся к подклассу IgA1 или IgA2 и представлены в основном димерной формой с коэффициентом

седиментации 11S и молекулярной массой 385 000. Они присутствуют в большом количестве в серозно-слизистых секретах, где связаны с другим белком, называемым секреторным компонентом. Этот класс составляет менее 1 % всех иммуноглобулинов IgD. Биологическая роль иммуноглобулинов данного класса до конца не известна. Предполагательно они участвуют в антиген-зависимой дифференцировке лимфоцитов.

**IgE.** Концентрация иммуноглобулинов этого класса в сыворотке крови исчезающе мала, но он выявляется на поверхности мембран базофилов и тучных клеток у любого человека. Кроме того, ими сенсibilизированы клетки слизистых оболочек, в частности носовой полости, бронхов и конъюнктивы. Возможно, IgE имеют существенное значение в антигеламинтозном иммунитете, однако в развитых странах с ними чаще всего связан патогенез аллергических заболеваний, например бронхиальной астмы и поллиноза (сенной лихорадки).

## 2.4.2. СТРОЕНИЕ АНТИТЕЛ

Основная четырехцепочечная структурная единица (мономер) молекул иммуноглобулинов (рис. 18) образована полипептидными цепями двух разных типов. Меньшие по размерам (легкие, L — от англ. light) цепи имеют молекулярную массу 25 000 и одинаковы у всех классов, тогда как более крупные (тяжелые, H — от англ. heavy) цепи, молекулярной массой 50 000...77 000, структурно различны у разных классов и подклассов иммуноглобулинов. Полипептидные цепи удерживаются вместе ковалентными и нековалентными связями.

Каждая цепь содержит вариабельную и константную области. У большинства позвоночных легкие цепи существуют в двух вариантах (к и л) и диморфа (λ). В молекуле иммуноглобулина могут объединяться пары легких и тяжелых цепей любого типа, но обе цепи в паре относятся к одному типу.

Как установили Хильшманн, Крейт и соавторы (1965), легкие цепи состоят из двух разнородных остатков. С-концевая половина (приблизительно 107 аминокислотных остатков) цепи одинакова (константна) у легких цепей всех типов (исключая некоторые аллотипические и изотипические варианты, см. ниже); она названа константной, или C<sub>L</sub>-областью (от англ. constant light chain). В то же время N-концевая половина этой цепи имеет множество вариантов аминокислотной последовательности, из-за чего названа вариабельной, или V<sub>L</sub>-областью (от variable light chain).

Молекулы IgG имеют типичную для антител структуру. В качестве «типичного» антитела можно рассматривать молекулу IgG (см. рис. 18). В ней имеется две внутрисоединенные дисульфидные

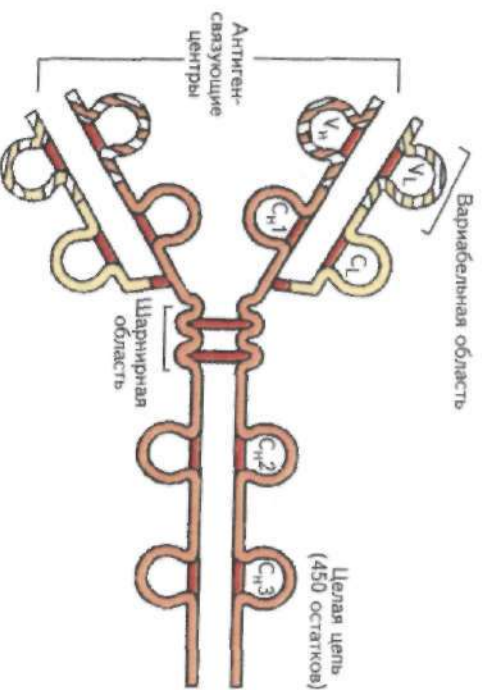


Рис. 18. Общая схема строения IgG1.

N-концевой последовательности как легких (L), так и тяжелых (H) цепей IgG1 свойственна вариабельность (V), поэтому эти области называются соответственно V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub>. Остальные части молекулы имеют относительно неизменную (константную — C) структуру. Константная область легкой цепи обозначается C<sub>L</sub>. Константную область тяжелой цепи подразделяют еще на три структурно обособленные области — C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 и C<sub>H</sub>3. И вариабельные, и константные области связаны (показаны красным цветом) глобулярные структуры, называемые доменами. Антигенсвязывающие центры молекулы иммуноглобулина образованы вариабельными доменами V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub>. Отрезок тяжелой цепи между доменами C<sub>H</sub>1 и C<sub>H</sub>2 называют шарнирной областью: она обладает гибкостью, которая позволяет обоим антигенсвязывающим центрам функционировать независимо один от другого. За исключением домена C<sub>H</sub>2, домены одной тяжелой цепи тесно прилегают к гомологичным V<sub>L</sub> и C<sub>L</sub> доменам легкой цепи и к C<sub>H</sub>3-области другой тяжелой цепи (см. рис. 19). К C<sub>H</sub>2-доменам присоединяются углеводные компоненты.

Связи в каждой легкой цепи: по одной в вариабельной и константной областях и четыре таких связи в каждой тяжелой (γ) цепи, которая вдвое длиннее легкой. Каждая дисульфидная связь замыкает пептидную петлю из 60...70 аминокислотных остатков; при сравнении аминокислотных последовательностей этих петель выявляется удивительно высокая степень их гомологии. В основном поэтому каждая полипептидная цепь иммуноглобулина образует несколько глобулярных доменов с весьма сходной вторичной и третичной структурой.

Пептидная петля, замкнутая дисульфидной связью, — это центральная часть домена, в котором насчитывается примерно 110 аминокислотных остатков. Как в легких, так и в тяжелых цепях первые от N-конца домены образованы соответственно вариабельными областями V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub> (рис. 19). Тяжелые цепи IgG, IgA и IgD имеют еще три домена — C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 и C<sub>H</sub>3, составляющих константную область. В цепях μ и ε непосредственно за C<sub>H</sub>1 следует

один дополнительный домен, поэтому C-концевые домены тяжелых цепей IgM и IgE (обозначаемые C<sub>H</sub>4 и C<sub>H</sub>4) гомологичны C<sub>H</sub>3-домену IgG (C<sub>H</sub>3).

По данным рентгеноструктурного анализа удалось реконструировать α-углеродный скелет и построить компьютерные модели цепей молекул IgG. Моделльные IgG имеют вид Y- и T-образных структур, и аналогичные формы IgG выявлены при помощи электронной микроскопии.

В Fab-области молекулы иммуноглобулина гомологичные домены легких и тяжелых цепей располагаются парами (как показано на рис. 19). C<sub>H</sub>3-домены двух тяжелых цепей также образуют пару, но C<sub>H</sub>2-домены разделены углеводными компонентами.

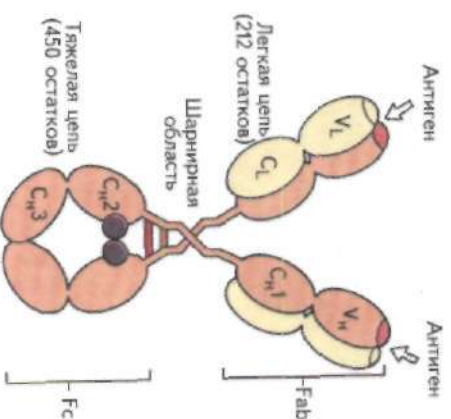
Несмотря на структурное сходство гомологичных доменов, междоменные взаимодействия в разных парах существенно различаются. Например, вариабельные домены контактируют друг с другом слями, состоящими из трех сегментов, а константные — с другими из четырех сегментов цепи. Модель молекулы IgG1, представленная на рис. 19, в общем адекватно отражает структуру элитарных единиц в составе иммуноглобулинов всех изотипов, однако каждый класс и подкласс имеет свои характерные отличия в деталях строения.

Четыре подкласса IgG лишь незначительно различаются по аминокислотной последовательности тяжелых цепей. Этими различиями, относящимися в основном к шарнирной области, обусловлены изотипические вариации расположения и числа межцепочечных дисульфидных связей. Из четырех подклассов наиболее выраженной структурной особенностью — удлиненной шарнирной областью — обладает IgG3, чем объясняется его более высокая молекулярная масса и, отчасти, повышенная биологическая активность.

IgM. IgM обычно обнаруживается в виде пентамера основной «четырецепочечной» структурной единицы. Отличие его μ-цепи от γ-цепей IgG состоит в иной аминокислот-

Рис. 19. Структура IgG1.

Модель молекулы IgG1 с изображением глобулярных доменов тяжелой (H) и легкой (L) цепей. Отображено взаимное расположение доменов C<sub>H</sub>3 и C<sub>L</sub> и распределение углеводных компонентов (показаны синими). На этом рисунке дисульфидные связи между H- и L-цепями не показаны.

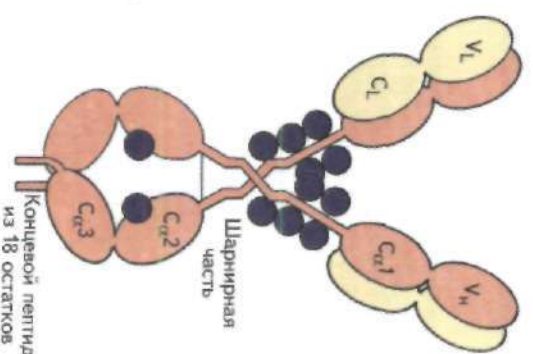




ной последовательности и наличия дополнительного константного домена с С-концевым пептидом из 18 аминокислотных остатков. Субъединицы пентамера соединены дисульфидными связями между  $C_{\alpha 3}$ -доменами и, вероятно, между С-концевыми пептидами. По данным электронной микроскопии, молекула IgM имеет плотно сложенный центр, от которого расходятся пять ветвей.

Молекулу IgM характеризуют еще два свойства: многочисленны присоединенные к  $\mu$ -цепи олигосахариды и добавочная пептидная J-цепь (от англ. joining — соединение), которая предположительно принимает участие в полимеризации мономерных единиц, предшествующей выходу IgM из синтезирующей его клетки. J-цепь представляет собой полипептид из 137 аминокислотных остатков, образующий домен иммуноглобулинового типа. Каждая молекула IgM содержит только одну J-цепь. Она соединена дисульфидными связями с С-концевыми, состоящими из 18 аминокислотных остатков, пептидами тяжелых цепей отдельных мономеров (дисульфидную связь образует остаток цистеина в предпоследней позиции). Имеется наблюдение, что в клетках, секретирующих IgM преимущественно в форме гексамера, отсутствуют свободные J-цепи.

**IgA.** Состоящая из 472 аминокислотных остатков  $\alpha$ -цепь свертывается с образованием четырех доменов:  $V_H$ ,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  и  $C_{H3}$  (рис. 20). Аналогично IgM тяжелая цепь IgA содержит дополнительный С-концевой пептид из 18 аминокислотных остатков с остатком цистеина в предпоследней позиции. Этот остаток способен ковалентно взаимодействовать с J-цепью, соединяющей две молекулы с образованием димера. На электронных микрофото-



графиях димеры IgA выглядят как двойные Y-формы, что свидетельствует о соединении двух мономерных субъединиц «концом в конец» и об участии в этом соединении С-концевых областей  $C_{H3}$ .

Секреторный IgA (sIgA) представлен главным образом димерной формой с кофактором селенин-тази IIS (молекулярная масса 380 000). Полностью собранная молекула состоит из двух мономеров

Рис. 20. Структура IgA1.

Доменная структура IgA1 и положение углеводных цепей (показаны синим). Отсутствует «хвостовой» пептид из 18 аминокислотных остатков на С-конце (общий признак с IgM) и шарнирная область.

**IgA.** одного секреторного компонента (молекулярная масса 70 000) и одной J-цепи (молекулярная масса 15 000). Как все эти пептидные цепи связаны между собой, до конца не ясно. В противоположность J-цепи секреторный компонент синтезируется не в плазматических, а в эпителиальных клетках. Молекулы IgA, удерживаемые в димерной конфигурации J-цепью и секретирούμε субэпителиальными плазматическими клетками слизистых оболочек, при прохождении через эпителиальный покров активно связывают секреторный компонент. Он способствует доставке антител sIgA в выделения организма, а также защищает эти антитела от протеолиза.

Преобладающий подкласс IgA как в сыровотке, так и в выделениях организма (носовой секрет, слюна, слезы, молоко) — это IgA1 (~90 % и 70...95 % соответственно). Однако в просвете толстой кишки около 60 % IgA составляет подкласс IgA2. Многие представители микрофлоры верхних дыхательных путей, приспособленные к условиям обитания, выделяют протеазы, расщепляющие IgA.

**IgD.** К IgD относится менее 1 % иммуноглобулинов сыровотки крови. Этот белок гораздо более чувствителен к протеолизу, чем IgG1, IgG2, IgA или IgM и, кроме того, проявляет тенденцию к спонтанному протеолизу. По-видимому, его  $\delta$ -цепи удерживаются вместе всего одной дисульфидной связью и соединены с большим числом углеводных (олигосахаридных) цепей.

**IgE.** Молекула IgE состоит из более крупных (по сравнению с другими изотипами)  $\epsilon$ -цепей (72 500), содержащих большее число аминокислотных остатков (приблизительно 550) и образующих пять доменов ( $V_H$ ,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$  и  $C_{H4}$ ).

## 2.5. КОМПЛЕМЕНТ

- Система комплемента — это одна из основных систем врожденного иммунитета, функция которой состоит в том, чтобы отличать «свое» от «не-своего». Такая дифференциация осуществляется благодаря присутствию на собственных клетках организма регуляторных молекул, подавляющих активацию комплемента.

- Существует два главных пути (механизма) активации комплемента — классический и альтернативный. При классической активации происходит связывание иммунных комплексов с  $C1q$ , что обуславливает приобретенный иммунитет (антитела) с врожденным (комплемент).

- В плазме крови постоянно происходит «холостая» активация  $C3$ , приводящая к фиксации небольшого числа его молекул на поверхности как «своего», так и «не-своего». На поверхности собственных клеток регуляторные белки вызывают разрушение связавшихся молекул  $C3$  и подавляют дальнейшую активацию комплемента. На чужеродных структурах, лишенных регулятор-

ных белков, напротив, начинается альтернативная активация комплемента.

• Наличие внутренней тиоэфирной связи в белках С3 и С4 позволяет им ковалентно взаимодействовать с гидрокси- и амидогруппами других молекул. Образование этой связи составляет ключевой момент активации комплемента в очагах воспаления.

• При активации комплемента действуют два механизма усиления. Первый известен как «запуск ферментного каскада». Пусковым сигналом служит связывание небольшого числа молекул С1q, вызывающее затем последовательную активацию ряда зимогенов (проферментов), которые расщепляют уже значительно большее число молекул С3.

• Вторым механизмом усиления — это действующая по принципу положительной обратной связи «петля усиления». Расщепление небольшого количества молекул С3 с образованием С3b способствует появлению фермента С3-конвертазы, который расщепляет тораздо больше С3. На собственных клетках организма имеются молекулы, подавляющие действие этой петли усиления путем расщепления С3b на неактивные продукты. На чужеродных структурах действие «петли усиления» не встречает препятствий.

• Эффекторные механизмы системы комплемента делятся на пять групп в зависимости от функции: 1) опсонизация микробов для поглощения их фагоцитами; 2) непосредственное уничтожение микроорганизмов путем лизиса; 3) активация и хемотаксическое привлечение лейкоцитов в очаг воспаления; 4) проинесит (специфическое расщепление) иммунных комплексов; 5) индукция специфических антител путем, во-первых, усиленной локализации антигенов на поверхности В-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток и, во-вторых, снижения порога активации В-лимфоцитов.

• Патогенные микробы вырабатывают механизмы, позволяющие им избежать уничтожения системой комплемента, а в некоторых случаях даже использовать ее для усиления своей патогенности.

• Система комплемента может участвовать в патогенезе заболеваний, если происходит ее генерализованная активация *in vivo* или активация на собственных тканях в результате связывания комплемента аутоантигенами.

Термин «комплемент» первоначально применил П. Эрлих для описания «дополнительной», присутствующей в сыворотке активности, без которой специфические антитела не могут лизировать бактерии. Открытие этой термолабильной активности в сыворотке крови обычно приписывают Ж. Борде (1895), хотя нечто подобное несколькими годами ранее описал Г. Наттолл.

**Сложная номенклатура системы комплемента.** Белки классического пути активации и лизирующего мембрану комплекса обозначены каждый своим номером и вступают в реакцию активации в

следующем порядке: С1q, С1r, С1s, С4, С2, С3, С5, С6, С7, С8, С9. Среди них много предшественников ферментов — проферментов, которые приобретают активность только после расщепления.

Обозначение активного фермента отличается от обозначения его неактивного предшественника надбуквенной чертой, например С1q. Продукты расщепления обозначаются так же, как исходные компоненты комплемента, но с добавлением строчных букв — С1a, С1b, С1c. Из этого правила имеется одно исключение: обычно для меньшего фрагмента — «a», а для большего — «b», например С3a и С3b. Из этого правила имеется одно исключение: С2b означает меньший, а С2a — больший фрагмент С2.

Белки альтернативного пути активации называют факторами и обозначают однобуквенными символами. В тексте слово фактор обычно сокращается до первой буквы F или вовсе опускается, и в результате фактор В может быть обозначен аббревиатурой FВ или просто В. Регуляторные белки чаще всего обозначают аббревиатурой названий их функциональной активности: например, белок, ускоряющий диссоциацию С3-конвертазы классического пути, имеет символ DAF (от англ. decaying accelerating factor), или, по-русски, ФУД (фактор ускорения диссоциации).

Клеточные рецепторы, связывающие компоненты комплемента, названы по аббревиатуре своих лигандов (например, С5a-рецептор) или как маркерные молекулы в номенклатуре CD-системы. Отдельно пронумерованы рецепторы для главных фрагментов С3 как рецепторы комплемента типов 1, 2, 3 и 4 (СR1, СR2, СR3 и СR4). К сожалению, в результате этого некоторые рецепторы в современной литературе имеют по три синонима, например С3b-рецептор = CR1 = CD35.

Белки системы комплемента относятся к различным суперсемействам. Белки, объединенные в одно суперсемейство, например иммуноглобулинов, имеют много общих структурных и функциональных свойств. В систему комплемента входят белки, относящиеся к нескольким суперсемействам.

Классификация белков комплемента по суперсемействам позволяет лучше понять их структурные и функциональные взаимодействия. Поясним это на примере суперсемейства регуляторных белков комплемента, называемых также *регуляторами активации комплемента*. К ним относятся:

фактор Н — белок плазмы крови с молекулой удлиненной конформации;

С4-связывающий белок [С4-бс (binding protein)] — гептамерный белок плазмы, молекула которого имеет паукообразную форму;

фактор, ускоряющий диссоциацию С3-конвертазы (ФУД, CD35), — белок клеточной мембраны, закрепленный в ней на своеобразной гликофосфолипидной «ножке»;

мембранный кофакторный белок (МКБ, CD46) — трансмембранный белок, действующий как кофактор расщепления С3b;



рецепторы комплемента типа 1 (CR1, CD35) и типа 2 (CR2, CD21) — клеточные рецепторы, имеющие трансмембранные домены.

Семейство регуляторных белков комплемента кодирует группа тесно сцепленных генов, расположенных в хромосоме 1. При описании различных структур все эти белки содержат одинаковый домен, состоящий примерно из 60 аминокислотных остатков и названный *коротким общим петлем*. Этот домен может много раз встречаться в структуре каждой молекулы, образуя ее каркас и, возможно, определяя специфичность связывания. Синтез этих белков кодируют гомологичные, тандемно расположенные экзоны.

Составляющие это семейство шесть белков выполняют также ряд общих функций в активации комплемента: фактор H, C4b, ФУД, МРБ и CR1 подавляют образование комплексов C4b2a и C3bBb, т. е. C3-конвертаз классического и альтернативного путей активации. Некоторые из этих белков имеют и другие общие функции, но не идентичные, а лишь частично перекрывающиеся. Такие функции включают: подавление связывания C2 с C4b и фактора В с C3b, индукцию диссоциации C2a от C4b и Bb от C3b, действие в качестве кофакторов фактора I — фермента, ответственного за катаболизм C3b и C4b.

Следует отметить, что короткие общие повторы имеются и в других белках, которые, однако, не взаимодействуют с белками комплемента; это рецептор для ИЛ-2,  $\beta_2$ -гликопротеид I и фактор XIII системы свертывания крови.

**Активация комплемента — один из главных эффекторных механизмов врожденного иммунитета.** Система комплемента относится к факторам врожденного иммунитета и включает в себя ряд белков, действующих последовательно, т. е. каскадом, в котором каждый фермент катализирует активность следующего. Наиболее важный компонент комплемента — это C3, присутствующий в плазме крови в той же концентрации (1...2 мг/мл), что и некоторые иммуноглобулины. Два главных пути активации комплемента отражают особенность его участия в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета. Классический путь связан с приобретенным иммунитетом, поскольку белок C1q взаимодействует с антителами, образовавшимися в комплексе с антигеном. Альтернативный путь активации комплемента относится к механизмам врожденного иммунитета, начинаясь иммунорецепторным связыванием C3b с поверхностью микроорганизма.

Активность отдельных компонентов комплемента *in vivo* можно проиллюстрировать на примерах расстройств, вызванных недостаточностью этих белков. У таких особей наблюдается повышенная восприимчивость к рецидивирующим гнойным бактериальным инфекциям, а также к заболеваниям, для которых характерно повышенное образование аутоантител и иммунных

комплексов. Эти наблюдения свидетельствуют о необходимости комплемента как для антибактериальной защиты, так и для устранения иммунных комплексов, которые в противном случае способны вызывать аутоиммунные заболевания и болезни иммунных комплексов.

В результате активации комплемента при воспалении происходит: опсонизация микроорганизмов и иммунных комплексов; активация лейкоцитов; лизис клеток-мишеней (рис. 21).

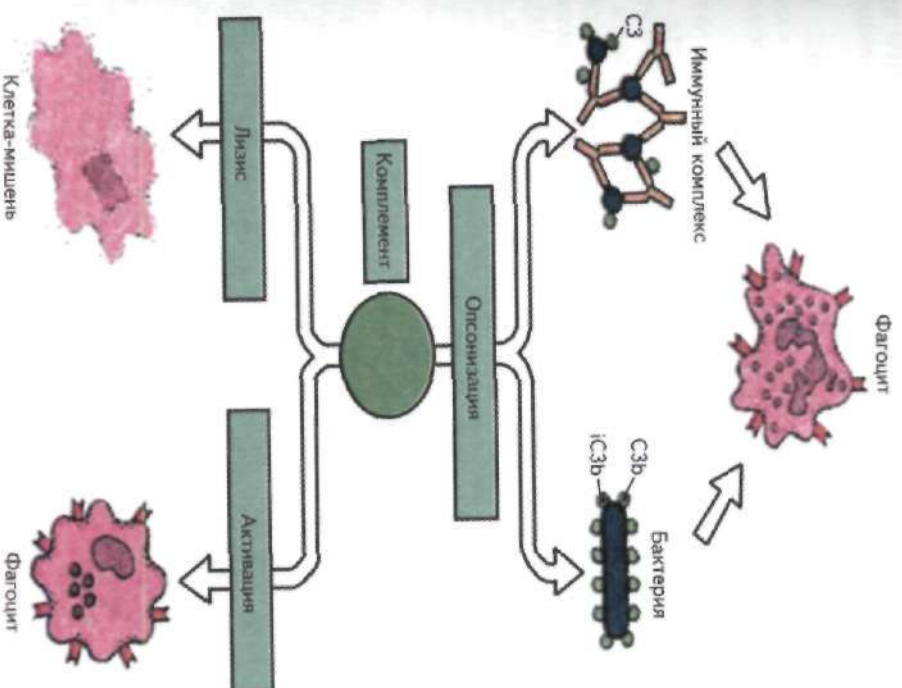


Рис. 21. Три главные функции комплемента в воспалительном процессе.

1. Опсонизация («одевание») комплексами микроорганизмов и иммунных комплексов для их распознавания клетками, экспрессирующими рецепторы комплемента; 2. Лизис клеток-мишеней; 3. Активация фагоцитов, включая макрофаги и нейтрофилы.



Опсонизация. Это стимулиция фагоцитоза в результате прикрепления белков компонента к поверхности мишеней (микробов, иммунных комплексов и др.). Обладая рецепторами к опсонизирующим белкам, фагоцитарные клетки связывают мишени, что вызывает активацию фагоцитов и эндоцитоз или фагоцитоз мишеней.

Активация лейкоцитов. Полиморфно-ядерные гранулоциты и макрофаги обладают специфическими рецепторами к мелким фрагментам белков компонента, образуясь на поверхности мишеней в результате каскада протеолитических реакций. Диффундируя в окружающую среду, эти фрагменты привлекают фагоциты (направленное движение клеток, или хемотаксис) и, связываясь с ними, вызывают их активацию.

Лизис клеток-мишеней. Протеолитический каскад компонента завершается погружением гидрофобного «зонда» в липидный бислой мембраны клетки-мишени и ее последующим осмотическим разрывом и лизисом.

Комплемент способен отличать «свое» от «не своего». Относятся к факторам врожденного иммунитета, компонент реализует механизмы, позволяющие отличать «свое» от «не своего». Ключевой момент этой функции заключается в не-медленном связывании C3b со всеми чужеродными объектами, будь то микроорганизмы или иммунные комплексы; поверхность собственных клеток организма защищена особыми молекулами, которые весьма эффективно ограничивают отложение C3b.

## 2.5.1. АКТИВАЦИЯ КОМПЛЕМЕНТА

**Пути активации компонента.** Существует три пути (механизма) активации компонента: классический, лектиновый и альтернативный. Все они ведут к образованию конвертазы, расщепляющей C3 на C3a и C3b, — центральный момент любого из каскадов компонента (рис. 22).

Конвертаза классического и лектинового путей представляет собой комбинацию фрагментов C4 и C2 — C4b2a, тогда как конвертаза альтернативного пути — это комплекс C3 с Fb — C3bFb. Фрагмент C3b, который отщепляется от C3 обе конвертазы, связывается с мембраной мишени и становится фокусом дополнительного образования C3b — эта ступень каскада получила название петли усиления.

Присоединяя дополнительно молекулу C3b, обе C3-конвертазы могут превращаться в конвертазу C5, которая функционирует как катализатор на первой ступени каскада, ведущего к образованию лизирующего мембрану комплекса.

**Классический путь активации компонента** чаще всего запускается иммунными комплексами. Зависимая от антител активация

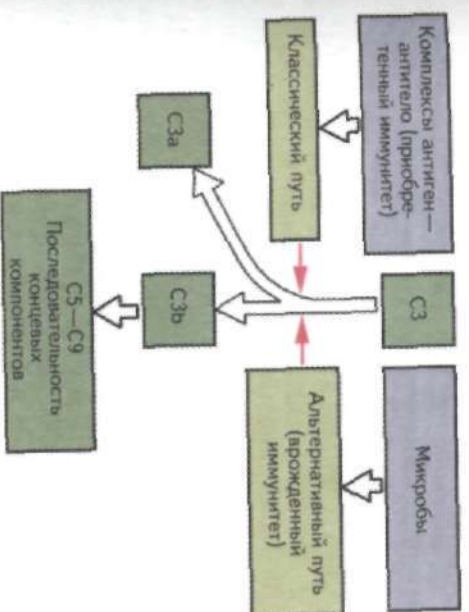


Рис. 22. Сопряжение классического и альтернативного путей активации компонента.

Активация компонента как по классическому, так и по альтернативному пути приводит к повышению C3-конвертазы, которая превращает C3 в C3b, и эта конвертаза — центральный компонент всего каскада. В свою очередь, C3b активирует цепочку концевых компонентов пути (C5—C9), образуя комплекс специфических антител и только затем происходит фиксация антител связывающихся со специфическими антигенами. Она начинается ковалентным связыванием C3b с гидроксилами группами на липолизативной мембране микробной клетки. Активация по альтернативному пути служит механизмом неспецифического врожденного иммунитета, тогда как классический путь представляет собой связующее звено между врожденным и приобретенным иммунитетом, появившемся в филогенезе сравнительно недавно.

Комплекта разветвляется в основном по классическому пути; роль первого ферментного комплекса в нем выполняет белок C1.

Активацию инициирует связывание C1 с антителами в составе иммунных комплексов. Ферментный комплекс C1 состоит из пяти молекул — одной C1q, двух C1r и двух C1s; их соединение зависит от  $Ca^{2+}$ . Первая ступень каскада активации по классическому пути — это связывание антитела не менее чем с двумя из шести сферических доменов молекулы C1q. В этом высокоavidном связывании участвуют C<sub>H</sub>2-домены (части Fe-областей) агрегированных молекул IgG в составе комплекса с антигеном. Молекулы C1q могут также связываться C<sub>H</sub>3-доменами неагрегированной молекулы IgM, конформация которой изменялась с «плюской» на «ложечную» в результате образования комплекса с антигеном.

Предполагается, что многоотечное связывание сферических доменов C1q с входящими в иммунные комплексы молекулами IgG или IgM ведет к изменению конформации всего комплекса C1, вызывая автокаталитическую самоактивацию сначала одной, а затем и другой молекул C1r с превращением их в две молекулы ак-



тивного фермента  $C1r$ , которые расщепляют обе молекулы  $C1s$  с образованием соответственно двух молекул  $C1s$ , обладающих активностью сериновой эстеразы.

*Лектиновый путь* активации компонента почти идентичен классическому, но запускается независимо от антител. Белок  $C1q$  относится к семейству кальцийзависимых лектинов, названных коллектинами (коллагеновые лектины). В это же семейство белков входит маннансвязывающий лектин (МСЛ), называемый иначе маннансвязывающим белком (МСВ), конглютинин и лектины поверхности с активными белками А и Д. Сывороточный МСЛ может связываться с концевыми манновыми группами на поверхности клеток бактерий, приобретая за счет этого способность к взаимодействию с двумя маннансвязывающими лектинами — активированными сериновыми протеиназами, МАСП1 и МАСП2, томогличными по структуре  $C1r$  и  $C1s$ . Это взаимодействие подобно взаимодействию  $C1q$  с  $C1r$  и  $C1s$  и приводит к независимой от антител активации компонента по классическому пути.

Кроме того,  $C1q$  связывается непосредственно, т. е. без участия антител, с некоторыми микробами, в частности с микоплазмами и рядом ретровирусов (но не ВИЧ).

Под действием  $C1$  происходит расщепление  $C4$  с образованием активированного  $C4b$ . Белок  $C4$  компонента содержит внутреннюю тиоэфирную связь, участок расположения которой высоко-гомологичен тиоэфирсодержащему участку  $C3$ . При расщеплении  $C4$  под действием  $C1s$  возникает два фрагмента:  $C4a$ , обладающий слабой анафилатоксической активностью, и более крупный (нестабильный, промежуточный)  $C4b^*$ . (Звездочка указывает на нестабильное состояние молекулы, в которой активирован участок связывания.) В течение нескольких миллисекунд  $C4b^*$  подвергается атаке расположенных в непосредственной близости нуклеофильных групп. Большинство молекул  $C4b^*$  гидролизуются с образованием неактивированного  $iC4b$ . Однако  $C4b^*$  может образовывать ковалентные связи с аминок- или гидроксигруппами молекул клеточной мембраны, превращаясь в связанный на поверхности  $C4b$ .

Известны два изоформа  $C4$  —  $C4A$  и  $C4B$ . Их кодируют расположенные тандемно гены главного комплекса гистосовместимости. Активированный  $C4A$  взаимодействует преимущественно с аминокислотами, а  $C4B$  — с гидроксигруппами, образуя соответственно амидные и эфирные связи. Таким образом,  $C4A$  связывается в основном с белками, а  $C4B$  — с углеводами.

В результате присоединения  $C2$  к связанному на клеточной поверхности  $C4b$  образуется  $C3$ -конвертаза классического пути. Связанный на клеточной поверхности  $C4b$  становится, в свою очередь, участком связывания для профермента  $C2$ . Связанный  $C2$  служит субстратом для  $C1s$ , который расщепляет его с осво-

бождением  $C2b$ , при этом более крупный фрагмент,  $C2a$ , остается присоединенным к  $C4b$ , в результате чего образуется  $C4b2a$  — ферментный комплекс, называемый  $C3$ -конвертазой классического пути.

Образующийся под действием  $C3$ -конвертазы белок  $C3b$  может ковалентно связываться с молекулами клеточной поверхности. Полипептид  $C3$  относится к белкам с необычными постройками — с изменением структуры. Расположенные на близком расстоянии остатки пептида и глутамин образуют за счет взаимодействия аммиака метабильную внутреннюю тиоэфирную связь. Электрофильная (акцептирующая электроны) карбоксильная группа ( $-C=O$ ) этого тиоэфира чувствительна к атаке нуклеофильных групп (доноры электронов), в том числе аминок- и гидроксигрупп приближающихся белковых и углеводных молекул. Таким образом,  $C3$  способен ковалентно связываться с этими молекулами (рис. 23).

Протеолитическое отщепление  $C3a$  от N-конца  $\alpha$ -цепи  $C3$  под действием  $C3$ -конвертазы приводит к конформационному изменению оставшейся части молекулы (т. е.  $C3b^*$ ), делаяшему внутреннюю тиоэфирную связь весьма нестабильной. Она становится новым участком связывания внутри  $C3b^*$ , способным очень активно взаимодействовать с находящимися вблизи нуклеофильными группами. Как и в случае  $C4b^*$ , большая часть молекул  $C3b^*$  подвергается гидролизу, однако некоторые молекулы связываются с белками и углеводами, находящимися в непосредственной

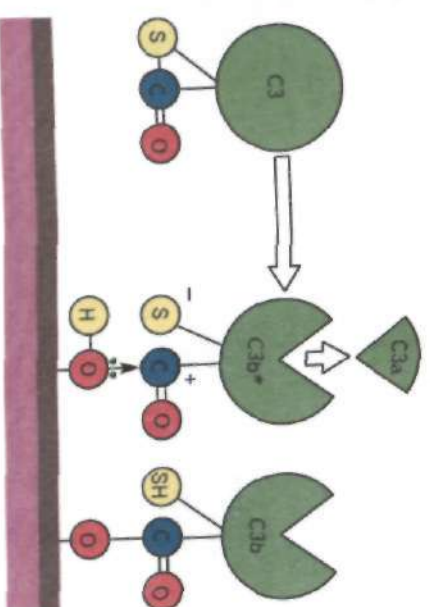


Рис. 23. Дестабилизация тиоэфирной связи в молекуле  $C3$ .

$\alpha$ -Цепь молекулы  $C3$  содержит тиоэфирную связь, образующую остатками пептида и глутамина. В результате расщепления  $C3$  на  $C3a$  и  $C3b$  эта связь становится нестабильной и чувствительной к нуклеофильной атаке  $-OH^-$  и  $-NH_2^+$ -групп (доноров электронов), что позволяет  $C3b$  ковалентно связываться с белками и углеводами.



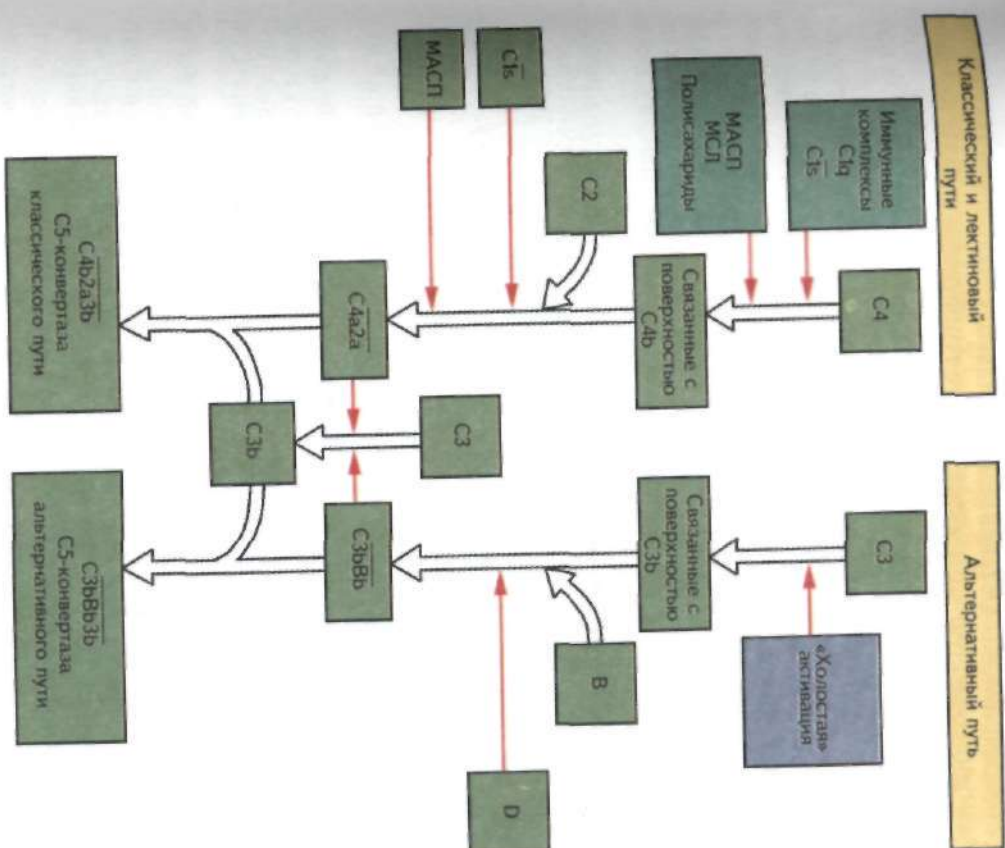
Активация комплемента по классическому пути тонко регулируется. Существует два механизма регуляции классического пути активации комплемента в жидкой фазе. Первый — это действие С1-ингибитора, т. е. ингибитора сериновых протеиназ (серпина), связывающего и инактивирующего  $C1r$  и  $C1s$ .

Активации по классическому пути регулируется также путем подавления взаимодействия компонента с поверхностью клеток хозина. Ингибирование осуществляют регуляторные белки компонента: фактор, ускоряющий диссоциацию C3-конвертазы (ФУД, CD55), рецепторы комплексов типа I (CR1, CD35) и мембранный кофакторный белок (МКБ, CD46). Эти белки действуют следующим образом: подавляют связывание C2 с C4b (ФУД или CR1); вызывают и ускоряют диссоциацию C4b2a на C2a и C4b (ФУД и CR1); действуют как кофакторы, стимулируя катаболизм C4b под действием фактора I (МКБ или CR1).

**Саморазвольная активация компонента по альтернативному пути.** «Холодная» альтернативная активация компонента постоянно поддерживает в плазме крови небольшую концентрацию С3в\*. Внутренняя тиреоидная связь в нативной молекуле С3 чувствительна к спонтанному гидролизу с превращением в активированную форму — С3i. (Эта постоянная, происходящая на низком уровне, саморазвольная активация С3 в плазме крови называется «холостой».) Образующийся С3i связывает фактор В с образованием С3iВ. Аналогичным образом, С2 связывается с С4b (рис. 24.) Связанный фактор В расщепляется фактором D с выс-

Рис. 24. Аналогичные этапы активации компонента по классическому, тектиновому и альтернативному механизмам.

Как классический, так и альтернативный путь активации компонента приводит к появлению *Sis*-*конвертеров*: *C4b2a* и *C3bBb* соответственно. Классический путь начинается с активации *C3* комплексов антиген-антигенно и последующего расщепления активированным *C3a* компонентом *C4* и *C2*. Фрагменты меньшего размера, *C4a* и *C2b*, высвобождаются, а более крупные образуют *C4b2a*. Компоненты *C4* и *C2* могут быть активированы также маннан-бондазой (лектинолизином) или сериновой протеиназой (МАСП) — бездомным активным



пути, аналогичным  $C1s$ , и следовательно, наименее связывающим лектином (МСД). На первом этапе альтернативного пути возникновения в результате «холостой» активации и связывания с поверхностью бесло  $C3b$  соединяется с фактором В, от которого фактор Д отщепляет меньший фрагмент — Ва. Большой фрагмент В, т. е. Вв, остается связанным с  $C3b$ , образуя  $C3bBb$  —  $C3$ -конвертазу, которая расщепляет дополнительное количество молекул  $C3$  (механизм положительной обратной связи). Поверхность, активирующая компонент (например, микроорганизмов), стабилизирует  $C3b$ , обеспечивая его связывание с фактором В. Это способствует дальнейшей альтернативной активации компонента  $C3$ -конвертазы классического и альтернативного путей, могут дополнительно присоединяться  $C3b$ , образуя ферментные комплексы, называемые  $C3$ -конвертазами ( $C3b2a3b$  и  $C3bBb3b$  соответственно), которые активируют следующий компонент системы компонента —  $C5$ .



водождением Ва. Оставшийся комплекс  $C3b$  представляет собой жидкофазную  $C3$ -конвертазу альтернативного пути, расщепляющую  $C3$  на  $C3a$  и  $C3b$ . Запуск пепти усиления альтернативного пути связанным на поверхности аутологичных клеток  $C3b$  приводят к регуляторным белкам комплекса.

Поскольку  $C3$ -конвертаза альтернативного пути действует в жидкой фазе, большая часть образующегося в результате в тивности  $C3b^*$  гидролизует и инактивируется водой. Однако в случае контакта с чужеродной поверхностью, в частности с мембраной бактериальной клетки,  $C3b^*$  ковалентно связывается и инициирует действие пепти усиления альтернативного пути. Общая схема взаимодействия компонентов комплекса при активации по классическому, лектиновому и альтернативному механизмам представлена на рис. 24.

На поверхности микробной клетки  $C3b$  защищен от протеолиза. Поверхности, интенсивно активирующие комплекс, названы защитными, поскольку связанный с ними  $C3b$  защищен от протеолиза. Чужеродная поверхность, подобная мембране бактериальной клетки, «защищает»  $C3$ , поскольку, связавшись с ней, он проявляет более высокую аффинность к фактору В, чем к фактору Н, и образует, вероятно, более стабильную конвертазу. Кроме того, на чужеродной поверхности отсутствуют регуляторные белки организма-хозяина, ингибирующие активацию комплекса.

За первоначальным прикреплением одной молекулы  $C3b$  к «защитной» поверхности следует стадия амплификации, в результате которой в том же месте фиксируется много дополнительных молекул  $C3b$ . Ключевым моментом для быстрого накопления  $C3b$  служит образование мембраносвязанной  $C3$ -конвертазы.

*Пепти усиления* — это механизм положительной обратной связи в активации комплекса по альтернативному пути. Связанный с поверхностью  $C3b$  присоединяет фактор В. Образовавшийся  $C3b$  становится субстратом для фактора D — сериновой эстеразы, отщепляющей от фактора В небольшой фрагмент, Ва. Оставшийся если не будет стабилизирован в результате связывания пропердина (Р) с образованием комплекса  $C3bBbP$ , представляющего собой связанную с поверхностью  $C3$ -конвертазу альтернативного пути.

Комплекс  $C3bBbP$  расщепляет много все новых молекул  $C3$ . Поскольку конвертаза локализована на «защитной» поверхности, образующиеся молекулы  $C3b^*$  будут связываться именно там, а не в каком-либо ином месте.

Отметим, что пепти усиления функционирует и в том случае, когда  $C3b$  фиксируется на поверхности в результате классической (зависимой от антител) активации комплекса.

**Конечная фаза активации комплекса — образование лизирующего мембрану комплекса.** Каскад реакций активации комплекса завершается образованием лизисного комплекса (лизирующий, или атакующий, мембрану комплекс, ЛМК) в результате ферментативного расщепления  $C5$  — белка, гомологичного  $C3$  и  $C4$ , но не содержащего внутренней тирозинной связи.

Прежде чем подвергнуться расщеплению  $C5$ -конвертазой,  $C5$  избирательно связывается с  $C3b$  в ее составе.  $C5$ -конвертаза классического пути — это трехмолекулярный комплекс,  $C4b2a3b$ , в котором  $C3b$ , ковалентно присоединенный к  $C4b$ , обладает более высокой константой связывания с  $C5$ , чем  $C3b$ , связанный с другими молекулами клеточной поверхности.  $C5$ -конвертаза альтернативного пути представляет собой также трехмолекулярный комплекс —  $C3bBb3b$ , в котором один  $C3b$  ковалентно связан с другим. При расщеплении  $C5$  высвобождается небольшой пептидный фрагмент  $C5a$  — высокоактивный анафилактиксин.

Лизирующий мембрану комплекс образуется путем ферментативной сборки  $C5b-9$ . Последующее формирование ЛМК происходит без участия ферментов. Компонент  $C5b$  связывается с  $C6$  с образованием  $C5b6$ , который взаимодействует с  $C7$ , образуя комплекс  $C5b67$ . В результате связывания  $C7$  гидрофильный  $C5b6$  превращается в гидрофобный комплекс  $C5b67$ , способный преимушественно встраиваться в липидный бислой. К этому комплексу присоединяется  $C8$  и затем последовательно до 14 мономеров  $C9$ . В результате формируется лизисный «зонд», или поробразующая молекула. Хотя после присоединения  $C8$  к  $C5b67$  комплекс уже проявляет незначительную лизисную активность, полное ее развитие зависит от полимеризованного  $C9$ . Отметим, что комплекс  $C5b6789$  обычно обозначают аббревиатурой  $C5b-9$ ; подобным же образом могут обозначаться и предшествующие продукты сборки, например  $C5b-8$ .)

Полимеризация гидрофобных молекул для образования пор в мембране — это обычный механизм клеточной цитотоксичности. Т-лимфоциты поражают клетки-мишени, погружая в их мембрану поробразующие молекулы, названные *перфоринами*. Перфорин структурно гомологичен  $C9$ ; подобные же молекулы найдены в гранулах эозинофилов (катионные белки эозинофилов). Некоторые бактериальные токсины, например стрептолизин О, также представляют собой поробразующие молекулы.

## 2.5.2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕМЕНТА

Биологические активности системы комплекса можно подразделить на полезные для организма-хозяина и вредные.

Основные полезные эффекты комплекса: содействие в уничтожении микроорганизмов; интенсивное удаление иммун-

ных комплексов; индукция и усиление гуморального иммунного ответа.

Система комплемента может вызывать повреждение клеток и тканей собственного организма в следующих случаях: если происходит ее генерализованная массивированная активация, например при септикемии, вызванной прототипическими бактериями; если ее активация происходит в очаге тканевого некроза, в частности при инфаркте миокарда; если активация происходит при аутоиммунной реакции в тканях.

**Комплекс способен уничтожению микроорганизмов.** Усиление лизиса микробов достигается несколькими путями, включая: образование анафилатоксинов, которые повышают проницаемость стенок сосудов, облегчая тем самым поступление в очаг инфекции других защитных факторов воспалительной реакции; опсонизацию микробов для усиления фагоцитоза; внедрение лизирующего мембрану комплекса в мембрану микробных клеток. Анафилатоксины — сильные индукторы воспаления. Активация системы комплемента приводит к образованию анафилатоксинов С3а и С5а, физиологическая роль которых состоит в привлечении клеток воспалительного экссудата в очаг воспаления, а также в активации их эффекторных механизмов.

Системное введение С5а или генерализованная внутрисосудистая активация комплемента (например, при сепсисе, вызванном прототипическими бактериями), может привести к сердечно-сосудистому коллапсу и бронхоспазму, т. е. к состоянию, напоминающему анафилаксию (отсюда название анафилатоксины).

Активность С5а многообразна. Он служит сильным активатором всех типов клеток миелоидного ряда. Этот анафилатоксин вызывает хемотаксис и хемотаксис нейтрофилов, их дегрануляцию, а также вспышку клеточного дыхания с образованием кислородных радикалов. Кроме того, С5а вызывает метаболизированием простагландинов и эйкозаноидов. При этом возрастает также поверхностная экспрессия молекул межклеточной адгезии, что способствует прилипанию клеток к сосудистой эндотелию. У моноцитов и макрофагов С5а вызывает аналогичные реакции и, кроме того, секретирует ИЛ-1 и ИЛ-6, а у базофилов и тучных клеток — дегрануляцию с высвобождением гистамина и других vaso-активных медиаторов.

Активируя эти клетки, С5а опосредованно влияет на кровеносные сосуды, повышая их проницаемость, и на гладкую мускулатуру, вызывая ее сокращение. Кроме того, С5а может действовать синергично с другими медиаторами воспаления, например вместе с ИФН- $\gamma$  или эндотоксином стимулировать секрецию ИЛ-1 моноцитами.

Присутствие С5а в кровотоке весьма кратковременно, как и следует ожидать для столь мощного медиатора воспаления. Со-державшийся в крови фермент карбоксипептидаза N отщепляет от

С5а С-концевой остаток аргинина, в результате чего все виды биологической активности этого эффектора, за исключением хемотаксической, существенно ослабевают. Затем происходит связывание его рецептором для С5а, интернализация и быстрое внут-риклеточное расщепление протеазами на неактивные фрагменты.

По сравнению с С5а субкомпонент комплемента С3а обладает гораздо меньшей активностью и связывается с иными клеточным рецептором. Он вызывает слабую адгезию нейтрофилов и вспышку клеточного дыхания, но в отличие С5а не обладает хемотаксической активностью. Отметим, что образование анафилатоксинов происходит в результате активации не только компле-мента, но и других ферментных систем, которые непосредственно расщепляют С3, С4 и С5. К таким ферментам относятся плазмин, калликреин, тканевые и лейкоцитарные (лизосомные) протеазы (в частности, эластаза нейтрофилов), а также протеолитические ферменты микробного происхождения, например гингипатин-1 из бактерии *Porphyromonas gingivalis*, которая встречается при пато-логии пародонта.

Фиксированные С3b и С4b действуют как опсонины, усиливая фагоцитоз. Ковалентно связываясь с поверхностью бактерий и иммунными комплексами, С3b и С4b делают их липкими для рецепторов комплемента на фагоцитарных клетках. Тем самым они обеспечивают очистку крови от бактерий и иммунных ком-плексов. Связывание С3b и С4b с рецепторами комплемента на по-верхности нейтрофилов, моноцитов и макрофагов может вызы-вать, кроме стимуляции фагоцитоза, экзоцитоз гранул, содержа-щих протеолитические ферменты, и образование свободных кис-лородных радикалов в результате вспышки клеточного дыхания.

Недостаточность комплемента ассоциирована с поврежденно-стью инфекционным заболеванием. Физиологическая роль комп-лемента в опсонизации и бактериолизе становится совершенно ясной, если проанализировать две формы его наследственной не-достаточности. Недостаточность компонентов классического пути и С3 и недостаточность семейства рецепторов CR3/CR4/LFA-1 ассоциированы с частым возникновением инфекций, вызывае-мых грамотрицательными бактериями. Тот факт, что дефицит опсонино-вых рецепторов приводит к одинаковым последствиям, убежде-тельно свидетельствует о важной роли комплемента в уничтоже-нии этих бактерий путем фагоцитоза и внутриклеточного разлу-щения.

Лизирующий мембрану комплекс принимает также участие в воспалительной реакции. Согласно традиционному представле-нию ЛМК уничтожает любую клетку, образуя поры в мембране и вызывая ее лизис. Однако не так давно было установлено, что со-державшееся в ЛМК, например клетки иммунной системы организма, относительно устойчивы к липическому действию ЛМК; отчасти это обусловлено присутствием на мембране регули-



торных молекул типа CD59, но кроме того — и способностью этих клеток устранять путем эндоцитоза или экзоцитоза те участки своей плазматической мембраны, в которые проник ЛМК. Даже в случае сублетального воздействия ЛМК вызванное им изменение структуры мембранного барьера может стимулировать клетки иммунной системы (в зависимости от их тканевого происхождения) к высвобождению и метаболизированию арахидоновой кислоты, усилению окислительного метаболизма, легганизации или секреции цитокинов. Эти реакции, возможно, важны для усиления воспадения в участках активации комплемента.

**Патогенные микроорганизмы противодействуют эффектам комплемента.** Взаимодействие между системой комплемента и микробами можно рассматривать как фактор продолжающейся эволюционной межвидовой борьбы. По мере развития системы комплемента, вероятно, под давлением отбора, связанного главным образом с инфекционными заболеваниями, у микробов, в свою очередь, появились механизмы выхода из-под удара комплемента и даже «использования» этой системы для развития инфекции. Фактически патогенные микробы патогенны именно благодаря своей способности обходить в известной мере механизмы защиты организма от инфекции.

Грамотрицательные бактерии экспонируют связывающие C3b и ЛМК структуры, на которых бактериолитическая активность комплемента лишена эффективности. Наружный слой клеточной стенки большинства грамотрицательных бактерий содержит липополисахарид (ЛПС) с длинными О-специфическими боковыми полисахаридами цепями, выступающими из мембраны наружу. Они эффективно активируют комплемент, но локализируют ковалентное связывание C3 и фиксацию ЛМК на таком удалении от цитоплазматической мембраны бактериальной клетки, при котором опсонизация и лизис невозможны. В подобных случаях в качестве фактора приобретенного иммунитета могут функционировать только бактерицидные антитела. Они активируют комплемент в непосредственной близости к тем участкам бактериальной поверхности, где его опсонизирующий и литический эффекты могут реализоваться. Некоторые бактерии имеют наружные покровы, устойчивые к опсонизации. Ряд микроорганизмов устойчив к действию комплемента благодаря присутствию на их поверхности молекул, препятствующих альтернативной активации комплемента и усиления фиксации C3. Например, штаммы патогенных грамотрицательных бактерий отпочковываются от своих непатогенных аналогов наличием богатой силловыми кислотами капсулы, на которой C3b связывает фактор H, а не фактор В, в результате чего подвергается расщеплению.

Микробы могут экспрессировать молекулы, подавляющие активность комплемента. Другая стратегия обхода микробами действия комплемента — это экспрессия ингибиторов, подобных тем,

которыми обладает организм-хозяин. Известны присутствующие на поверхности бактериальных клеток молекулы с Fe-рецепторными свойствами, например стафилококковый белок А и Fe-рецепторы, имеющиеся у многих герпесвирусов. Недавно обнаружены также экспрессия рецептора (гликопротеин С) для комплемента вирусом простого герпеса. Грибы *Candida albicans* экспрессируют молекулы, подобные CR2 и CR3 и имеющие даже антигенное сходство с CR3 человека. Все эти молекулы способны задержать микрорганализмы от обычных последствий связывания антител и комплемента. Так, IgG или C3, связавшись с рецепторами на поверхности микробов, могут утратить способность к взаимодействию с Fe-рецепторами на фагоцитируемых клетках. Еще одним стратегическим путем заключается в экспрессии регуляторных молекул, подавляющих активацию комплемента. Так, например, трипаносомы образуют ФУД- и CD59-подобные молекулы, тогда как шистосомы просто адсорбируют ФУД организма-хозяина, достигая той же цели.

**Комплементу принадлежит важная вспомогательная роль в индукции иммунного ответа.** Система комплемента облегчает контакт и взаимодействие антигенпрезентирующих клеток и В-лимфоцитов с антигеном (рис. 25). Например, от комплемента зависит необходимая для формирования В-клеток памяти локализация иммунных комплексов в центрах размножения внутри лимфатических узлов.

На В-клетках и АПК выявлены следующие рецепторы комплемента: В-клетки: CR1, связывающий C3b и iC3b, а также CR2, связывающий iC3b и C3de; моноциты и макрофаги: CR1 и CR3; фолликулярные дендритные клетки (единственный тип клеток, обладающий всеми тремя рецепторами): CR1, CR2 и CR3.

Организмы с наследственным дефицитом C3 страдают лишь умеренным нарушением продукции антител. Однако у морских свинок, дефицитных по C2, C3 или C4, наблюдается заметное угнетение первичного и вторичного иммунных ответов на малые дозы Т-зависимых антигенов. Эти факты свидетельствуют о вспомогательной (но не решающей) роли комплемента в эффективной индукции образования антител.

Комплемент участвует в пролиферации иммунных комплексов. В 1940-х гг. в эксперименте было установлено, что комплемент препятствует формированию решетчатой структуры преципитируемых комплексов антиген-антитело. На структуру и размеры иммунных комплексов влияют многие факторы, включая следующие: концентрация реагентов (антител и антигена); аффинность антител к томологичному антигену; валентность как антител, так и антигена (чем выше валентность, тем крупнее образующиеся комплексы).

Активация комплемента по классическому пути подавляет образование преципитатов иммунных комплексов в плазме крови.

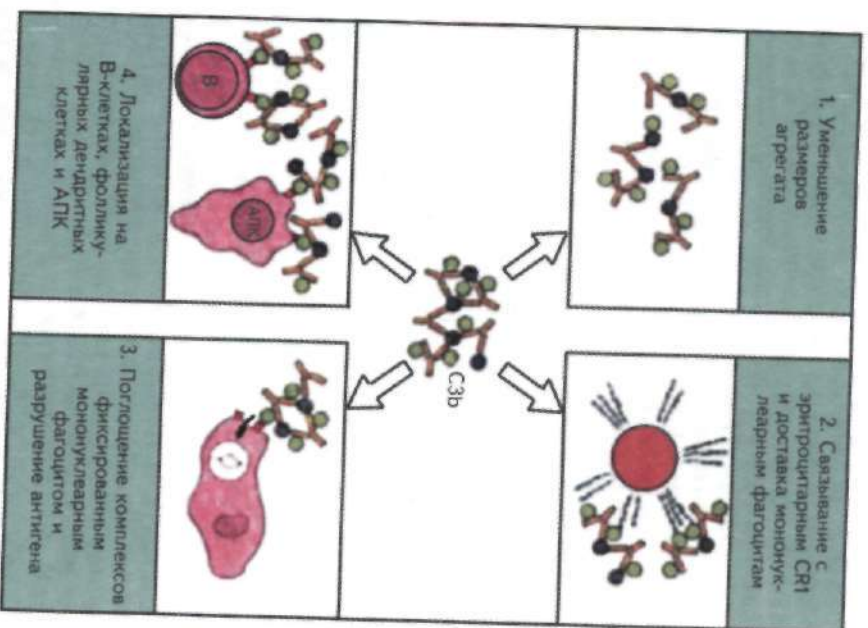


Рис. 25. Роль С3 в процессе иммунных комплексов.

Компонент С3 связывается с иммунными комплексами и благодаря этому 1) обуславливает уменьшение размеров иммунных агрегатов решетчатой структурой, 2) опосредует связывание циркулирующих иммунных комплексов с С1 на эритроцитах, которые трансформируют эти комплексы в кровотоке, 3) способствует поглощению иммунных комплексов фиксированными мононуклеарными фагоцитами и тем самым разрушению антигена и 4) способствует локализации антигена в виде иммунных комплексов на В-лимфоцитах и антипрезентирующих клетках, в том числе на специализированных фолликулярных (дендритных) клетках лимфатических узлов.

Подобным же образом активация по альтернативному пути может вызвать растворение иммунных комплексов, уже образовавшихся преципитаты в плазме, а также в тканях. Растворение происходит в результате ковалентного включения С3 в решетчатую структуру иммунного преципитата; С3 разрушает связь антиген с эпитопами антигена, ограничивая тем самым возможность образования крупных агрегатов.

Активация компонента иммунными комплексами в норме физиологически полезна, так как связанные с С3 комплексы эффективно удаляются из тканей и кровотока моноцитами и прочими фагоцитарными клетками (см. рис. 25). Однако в некоторых случаях интенсивное образование иммунных комплексов продолжается хронически, и тогда активация ими компонента имеет вредные последствия; в частности, это происходит при подостром бактериальном эндокардите и системной красной волчанке.

Комплемент способствует развитию некоторых заболеваний. Системная активация компонента приводит к образованию больших количеств анафилатоксина. В определенных условиях активация компонента *in vivo* играет вредную, а не полезную роль. Например, шок при бактериемии, вызванной грамотрицательными бактериями, отчасти обусловлен системной активацией компонента эндотоксином. Возникающие при этом в больших количествах С3а и С5а вызывают активацию и дегрануляцию нейтрофилов, базофилов и тучных клеток. Внутрисосудистая активация нейтрофилов приводит к диссеминированному свертыванию крови и задержке образовавшихся микротромбов в капиллярах легких, где продукты лейкоцитарного происхождения (включая эластазу и свободные радикалы) могут вызвать синдром «шокового легкого». Он характеризуется интерстициальным отеком легкого вследствие повреждения мелких сосудов, образованием нейтрофильного экссудата в альвеолах и артериальной гипоксемией.

Искусственное кровообращение через аппараты сердце—легкие или купрофановые диализаторы может стать причиной экстракорпоральной активации компонента, которая сопровождается временной лейкопенией, примерно такой же, как при агрегации нейтрофилов в легких.

Тканевой некроз активирует комплемент. Повреждение ткани вследствие ишемического некроза способно вызвать локальную активацию компонента и интенсивную фиксацию ЛМК на клеточной мембране. О возможной патофизиологической роли активации компонента в этом случае свидетельствуют данные экспериментального моделирования инфаркта миокарда, при котором снижение концентрации компонента уменьшает масштабы повреждения ткани. Подобный же эффект, как установлено недавно, вызывает введение растворимого рекомбинантного С1.

Активация компонента вследствие образования иммунных комплексов *in vivo* — возможная причина повреждения тканей. Активация компонента имеет существенное значение в патогенезе тканевой деструкции при заболеваниях, обусловленных образованием иммунных комплексов. Формирование таких комплексов возможно в тканях, например в почечных клубочках при нефропатии, вызванной образованием аутоантител к гломерулярной базальной мембране, или на концевых пластинках двигательных нейронов при злокачественной миастении с образованием



аутоантител к холинорецепторам. В других случаях циркулирующие иммунные комплексы могут отлагаться в стенках кровеносных сосудов. Например, при бактериальном эндокардите инфицированный сердечный клапан представляет собой источник образования иммунных комплексов, которые оседают в почках или других участках микрососудистого русла.

При болезнях иммунных комплексов комплекс провоцирует воспаление главным образом двумя следующими путями: с С3b и С4b, фиксированными на иммунных комплексах, связываются лейкоциты, активируемые и привлекаемые в места отложения этих комплексов образовавшимися здесь анафилатоксинами; так начинается повреждение тканей, и для подавления воспалительной реакции на экспериментальных моделях этого заболевания достаточно уменьшить содержание в крови комплекса или нейтрофилов; ЛМК (лизирующий мембрану комплекс) повреждает клеточную мембрану и стимулирует при этом образование простагландинов из арахидоновой кислоты. Этим обусловлено повреждение тканей при мембранозном нефрите, который в эксперименте удается вызвать антителами к субэпителиальным антигенам. Воспалительную реакцию в этом случае не подавляет удаление нейтрофилов, однако она почти полностью отсутствует у животных, дефицитных по С5. Базальная мембрана, вероятно, служит физическим барьером на пути миграции нейтрофилов, поэтому наблюдаемая высокая протенинурия обусловлена только фиксацией лизирующего мембрану комплекса.

**Контрольные вопросы и задания.** 1. Перечислите и дайте характеристику факторам неспецифического иммунитета. 2. Назовите центральные и периферические органы иммунной системы. 3. В чем состоят основные функции лимфоцитов в иммунной системе? 4. Перечислите клетки, осуществляющие иммунный ответ. 5. Назовите функции Т-, В- и НК-клеток. 6. В чем состоят иммунные функции антигенпрезентирующих клеток (АПК), тучных и эндотелиальных клеток? 7. Назовите функции цитотоксических клеток. 8. Какие клетки осуществляют фагоцитоз? 9. Назовите места локализации и функции АПК. 10. Какие иммунные функции выполняют антитела? 11. Назовите пять классов антител и их основные функции. 12. Опишите структуру антитела и их основную структурную единицу. 13. С рецепторами каких клеток взаимодействуют иммуноглобулины? 14. Дайте определение комплексу. 15. Назовите два главных пути активации комплекса. 16. Перечислите пять групп эффекторных механизмов комплекса. 17. Как защищаются микробы от действия системы комплекса? 18. Каков химический состав комплекса?

## Глава 3

### ИММУННЫЙ ОТВЕТ ОРГАНИЗМА

#### 3.1. МЕХАНИЗМЫ ИММУННОГО ОТВЕТА

Современные теории иммунитета можно подразделить на индуктивные и селективные. Индуктивные теории предусматривают образование комплексных антигенных структур антител путем видоизменения синтезируемых в рибосомах полипептидов в результате непосредственного контакта с ними антигена (теория прямой матрицы Гауригта—Полинга) или путем стойкого изменения генотипа клеток-предшественниц антителопродукторов (теория непрямого матрицы Бернета—Феннера). Селективные теории предусматривают отбор комплексных антигенных молекул нормальных антигенов с последующей передачей иммунного комплекса через фагоциты продуцентам антител (теория естественной селекции Ерне) или иммунокомпетентных клеток, обладающих соответствующими рецепторами, которые пролиферируют в клоны плазматических клеток, образующих томолитические антитела (клонально-селекционная теория Бернета).

По современным представлениям, иммунитет основан на функционировании Т- и В-лимфоцитов, которые кооперативно взаимодействуют между собой и с макрофитами, или клетками А (от англ. adherent — свойство прилипать к стеклу). Развитие иммунных реакций начинается с распознавания антигена. Наиболее сложный механизм распознавания белкового антигена замедленного типа реагирует на комплекс носителя антигена (а не гаптена) с белком Ia, образование которого кодируется генами иммунного ответа. Т-клетки лизируют измененные клетки организма, на поверхности которых антигены образуют комплекс с белками, кодируемыми генами гистосовместимости. При этом генотип взаимоделирующих клеток-мишеней, Т-, В- и А-клеток должен быть идентичным. В таком случае Т-лимфоциты при помощи рецепторов для Fc-фрагментов иммуноглобулинов воспринимают модифицированный антиген макрофатов, дополнительно усиливает его Ia-белком и передают В-лимфоцитам. Последние, получив дополнительный митогенный сигнал от иммунного комплекса, пролиферируют и трансформируются в клоны плазматических клеток. Процессы бласттрансформации начинаются в результате

активации аденилциклазы и образования циклического аденил-монофосфата (цАМФ).

Полисахариды и агрегированные белковые антигены с регуляторной жесткой структурой (например, полимеризованный флагеллин) вызывают трансформацию В-лимфоцитов в плазмочиты без вспомогательной функции Т-лимфоцитов. На полимерный белковый антиген без участия Т-хелперов образуются только IgM.

Иммуноглобулины синтезируются под действием мРНК в виде отдельных цепей полипептидов в полирибосомах, связанных с мембранами цитоплазматического ретикулума плазмочитов. Экскреция иммуноглобулинов плазматическими клетками осуществляется отдельными цепями полипептидов или целыми молекулами. Основная сборка иммуноглобулинов происходит в цистернах цитоплазматического ретикулума. При этом L-цепи из легких рибосом подходят к H-цепям из тяжелых рибосом и объединяются с ними в молекулу иммуноглобулина. Каждая плазматическая клетка секретирует от 50 до 700 молекул иммуноглобулина в секунду.

Синтез мембранных и секретируемых иммуноглобулинов, как и образование варибельного и константного участков каждого полипептида, кодируется разными генами. Поскольку образование иммуноглобулинов подчинено общим закономерностям биосинтеза белков, на индукции антигенообразования сказывается полоректорикостероидов.

На антигенное раздражение организм может отвечать антителообразованием, гиперчувствительностью немедленного типа, гиперчувствительностью замедленного типа, иммунологической толерантностью и иммунологической толерантностью. Все эти реакции развиваются в организме на один и тот же антиген, носят специфический характер и являются самостоятельной формой иммунного ответа. Основу различий каждой формы иммунного ответа организма составляют разные эффекторы, механизмы и результаты реакций. Важно поэтому представлять сущность каждой формы иммунного ответа и методы их регистрации.

Итак, любой иммунный ответ имеет две основные фазы: распознавание антигена;

реакции, направленные на устранение антигена.

**Клональная селекция.** Это пролиферация клеток, связавших специфический антиген. В реакциях приобретенного иммунитета распознавание антигена осуществляют лимфоциты, избирательно пролиферирующие благодаря клональной селекции.

Каждый лимфоцит (как В-, так и Т-популяции) генетически запрограммирован распознавать в основном только один антиген, но иммунная система в целом может специфически распознать многие тысячи разных антигенов. Поэтому лимфоциты, способные распознать тот или иной антиген, должны составлять лишь очень малую часть общей популяции. Как же в таком случае орга-

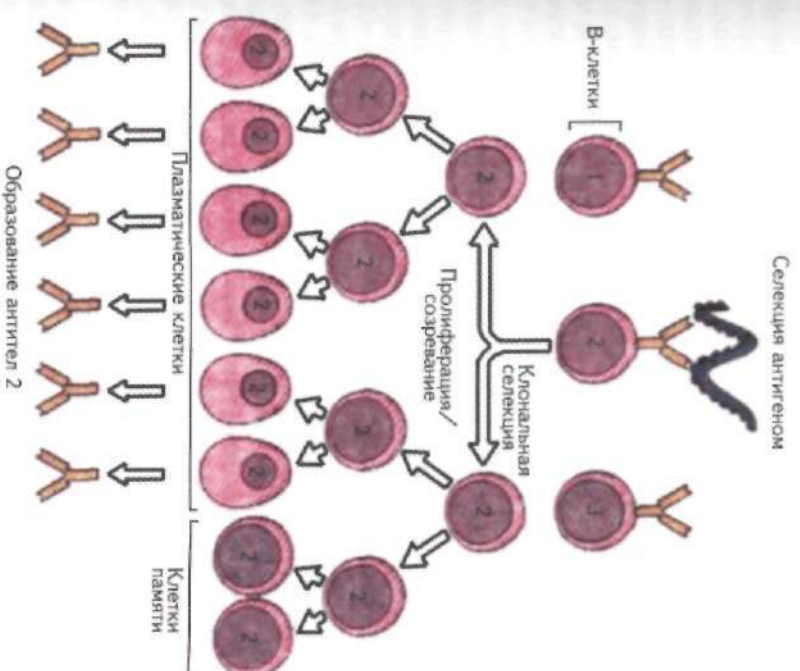


Рис. 26. Клональная селекция В-лимфоцитов.

Каждая антигенообразующая клетка (В-клетка) запрограммирована синтезировать антитела только одной специфичности. Они расположены на ее поверхности в виде антигенспецифичных рецепторов. Антиген связывается только с теми В-клетками, которые несут соответствующий поверхностный рецептор — в нашем примере В-клетка 2. Это взаимодействие стимулирует пролиферацию таких клеток и их созревание в клетки, образующие антитела, а также в долгоживущие клетки иммунологической памяти, все с той же исходной специфичностью связывания антигена.

низ адекватно отвечает на инфекцию? Объяснение состоит в том, что антиген, связавшись с теми немногими клетками, которые способны его распознать, вызывает их быструю пролиферацию. В течение нескольких дней появляется достаточно клеток для адекватного иммунного ответа. Иными словами, сам антиген выбирает и способствует образованию специфических клонов клеток, связывающих этот антиген, — процессу, названному клональной селекцией и свойственному как В-, так и Т-клеткам (рис. 26).



Кажется непостижимым, каким образом иммунная система может «предугадать» репертуар специфичностей антигенов, которые потребуются в течение будущей жизни индивида. На самом деле все обстоит иначе. Просто иммунная система производит антитела, способные распознать огромное разнообразие антигенов, еще до встречи с ними. Многие из этих антител никогда не будут востребованы для защиты данного индивида от инфекции. Однако бесчисленное множество патогенных микроорганизмов и их способность к изменению своего антигенного состава в результате мутаций делает наличие всех этих антител необходимым — на случай, если они понадобятся.

Лимфоциты, активированные связыванием антигена, вступают в цикл клеточного деления. Они экспрессируют новые рецепторы, позволяющие им реагировать на выделяемые другими клетками цитокины, которые служат сигналами к пролиферации. Лимфоциты могут также сами начать выделять цитокины. Обычно они проходят ряд циклов деления, прежде чем дифференцируются в зрелые клетки, опять-таки под действием цитокинов. Напрямую пролиферирующие В-клетки в итоге созревают в продуцирующие антитела плазматические клетки. Даже после устранения инфекции сохраняются некоторые часть новообразованных лимфоцитов, способных вновь активироваться, если антиген встретится им повторно. Их называют *клетками памяти*, так как они хранят иммунологическую память относительно отдельных антигенов. Существованием клеток памяти и обусловлен длительный иммунитет к тому или иному возбудителю.

**Эффекторные механизмы иммунного ответа.** Для устранения патогенных микроорганизмов существуют различные эффекторные механизмы иммунного ответа. Иммунная система располагает множеством механизмов для разрушения патогенных микробов, и каждый из них соответствует данному типу инфекции и конкретной стадии жизненного цикла возбудителя. Эти механизмы защиты часто называют *эффекторными системами*.

**Нейтрализация.** При действии одной из самых простых эффекторных систем антителам достаточно только связаться с опосредованным возбудителем, чтобы оказать ему противодействие. Например, антитела к наружным белкам капсулы некоторых риккетсий могут воспрепятствовать связыванию вирусных частиц с клетками организма и их инфицированию.

**Фагоцитоз.** Гораздо чаще антитела реализуют свой эффект, активируя комплекс или действуя в качестве опсонин, усиливающих поглощение микробов фагоцитами. Связавшись с опсонизированным микробом, фагоцитарная клетка поглощает его, окружая выделяемыми псевдоподиями. Псевдоподии сливаются, и микроб оказывается заключенным (эндоцитированным, интернализированным) в фagosому. Перерабатывают фагоциты поглощенный материал по-разному. Макрофаги, например, восстанавливают молекулярный кисло-

род с образованием бактерицидных реакционноспособных метаболитов кислорода, которые секретируются в фagosому. Нейтрофилы содержат лактоферрин, который хелатирует железо, лишая некоторые бактерии этого необходимого элемента питания. Наконец, с фagosомой сливаются гранулы и лизосомы, наполняя возникшую фаголизосому ферментами, разрушающими ее содержимое.

**Цитотоксические реакции и апоптоз.** Цитотоксические реакции — это эффекторные иммунные механизмы, направленные против целых клеток, обычно против тех, которые слишком крупны для фагоцитоза. Такая клетка-мишень распознается либо специфическими антителами, взаимодействующими с компонентами ее поверхности, либо Т-клетками посредством антигенспецифических ТCR. В отличие от фагоцитоза, при которой реакции атакующая клетка направляет содержимое своих гранул наружу, к клетке-мишени. Гранулы цитотоксических Т-клеток содержат соединения, называемые перфоринами, которые способны создавать каналы в наружной мембране клеток-мишеней. (Подобно этому, антитела, связавшись с поверхностью клеток-мишеней, могут привлечь комплекс для перфорирования ее цитоплазматической мембраны.) Некоторые цитотоксические клетки способны также своим сигналом включать программу саморазрушения клетки-мишени — процесс *апоптоза*.

### 3.2. ИСТОЧНИКИ РАЗНООБРАЗИЯ АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИХ СТРУКТУР. ТЕОРИИ ОБРАЗОВАНИЯ АНТИГЕН

• Благодаря огромному разнообразию антигенов, синтезируемых В-лимфоцитами, и антигенраспознающих рецепторов, экспрессируемых Т-лимфоцитами, иммунная система способна распознавать множество различных антигенов и отвечать на них.

• Молекула иммуноглобулина состоит из тяжелых и легких цепей; легкие цепи могут относиться к  $\kappa$ - или  $\lambda$ -типу. Общее число возможных вариантов антигенсвязывающих центров рассчитывается как произведение чисел различных тяжелых и легких цепей.

• Легкие цепи иммуноглобулинов кодируются генами сегментов V и J; в кодировании тяжелых цепей также участвуют сегменты V и J, но дополнительное разнообразие вносят сегменты D. • Рекомбинация ограниченного числа генов сегментов V, D и J создает бесконечное число вариативных доменов разной специфичности.

• После антигенной стимуляции в генах легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов происходят точечные соматические мутации. Гены Т-клеточных рецепторов при этом не подвергаются изменению.

• В колировании ТкР участвуют четыре группы генов: гены  $\alpha$  экспрессирует большинство периферических Т-клеток, а гены  $\gamma$  и  $\delta$  — одна из субпопуляций Т-клеток тимуса и небольшая часть периферических Т-клеток.

• Разнообразие ТкР, подобно разнообразию антител, создается в результате рекомбинации между геновыми сегментами V, D и J, происходящих в каждом из локусов  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - или  $\delta$ -цепей с небольшими различиями в механизмах.

• Рекомбинацию геновых сегментов V, D и J, кодирующих иммуноглобулины и Т-клеточные рецепторы, регулируют (по крайней мере отчасти) два активирующих ее гена (RAG-1 и RAG-2).

• Кроме простых перестановок геновых сегментов V, D и J в составки добавочных нуклеотидов («N-региональная» варибельность), изменение позиций стыковки геновых сегментов и рамок считывания сегментов D.

• Переклечение изогибрида иммуноглобулинов обусловлено рекомбинацией VDJ-генов с различными S-генами и дифференциальным сплайсингом РНК.

Способность иммунной системы распознавать антигены пептидом зависит от антигенов, синтезируемых В-лимфоцитами, и антигенсвязывающих рецепторов, экспрессируемых Т-лимфоцитами. Обе эти клеточные популяции способны распознавать множество разнообразных антигенов, но разными путями. Хотя антигены отличаются от Т-клеточных рецепторов (ТкР), разнообразие антигенной специфичности тех и других формируется посредством весьма сходных механизмов.

Благодаря своему паразитическому разнообразию по специфичности центров связывания антигена антигены обеспечивают распознавание миллионов различных антигенов, встречающихся в

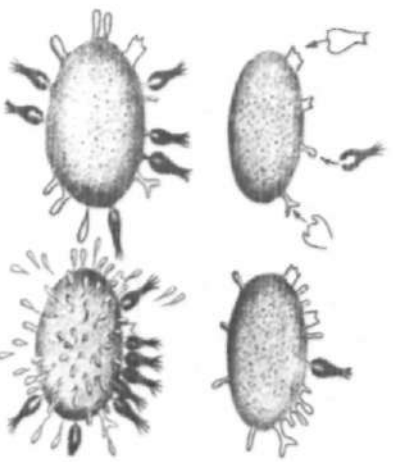


Рис. 27. Предложенная Эрихом теория боковых цепей.

Эрих предположил, что соединение антигена с уже имеющимся рецептором на поверхности В-клетки (теперь известное, что это мембраносвязанный иммуноглобулин) заставляет ее синтезировать и секретировать повышенное количество таких рецепторов. Хотя, как показано на рисунке, Эрих считал, что одна клетка способна продуцировать антигены, связывающие более чем один тип антигена, тем не менее он предполагал и клонально-селекционную теорию иммунизации, и фундаментальное представление о существовании рецепторов к антигену еще до контакта с ним иммунной системы.

окужающей среде. Кроме того, у антигенов каждого класса имеется характерная эффекторная область молекулы: например, IgE может связываться с Fc-рецепторами тучных клеток, тогда как IgG способен присоединяться к фагоцитам. Подсчитано, что структурных вариантов антигенов в организме образуется гораздо больше, чем всех прочих белков вместе взятых. Число синтезируемых организмом вариантов антигенов фактически превышает количество генов в нашем геноме. Как может возникнуть разнообразие такого масштаба? Первоначальные представления о процессе образования антигенов с годами существенно изменились, но все же вызывает удивление, как удалось П. Эриху в начале столетия своей гипотезой боковых цепей вплотную приблизиться к современным взглядам (рис. 27)? Его идея о селекции антигеном клеток, образующих антигены, почти совпадает с современной клонально-селекционной теорией, исключая разделение нескольких рецепторов разной специфичности на одной и той же клетке.

В послеэриховский период представления об образовании антигенов утратили первоначальную простоту. Необходимость их пересмотра возникла в связи с тем, что химикам научились синтезировать новые, отсутствующие в природе органические соединения и, как показал К. Ландштейнер, иммунная система оказалась способной отвечать образованием специфических антигенов на каждое из них. Сама возможность появления в результате естественного отбора в клетках иммунной системы тех генов, которые необходимы для образования антигенов ко всем этим новым, синтетическим веществам, казалась невероятной. В итоге появилась инструментальная гипотеза образования антигенов, согласно которой антиген, воздействуя на гибкую молекулу иммуноглобулина («инструментируя»), формирует в ней комплексный себе центр связывания. Стремительный прогресс молекулярной биологии в 50—60-х гг. XX в. сделал инструментальную гипотезу образования антигенов неприемлемой, так как стало очевидным, что механизма «инструментирующего» действия антигена просто не существует. На новом витке развития научной мысли предпочтительнее вновь завоевали селекционные идеи. Почти одновременно Н. Эрне и Ф. Бернхейм были выдвинуты клонально-селекционная теория, утверждавшая, что каждый лимфоцит образует иммуноглобулины только одной специфичности и что антиген вызывает и стимулирует клетки, несущие специфичные именно к нему антигены.

Однако еще оставался без ответа вопрос об источниках разнообразия антигенов. Теоретическое допущение существования своего особого гена для антигена каждой из множества специфичностей немедленно породило другую проблему. Половина аминокислотной последовательности любой легкой и четверть любой тяжелой цепи иммуноглобулинов всегда варибельна, а осталь-



ная часть константна. Каким образом в случае предполагаемого множества генов антигел возможно сохранение неизменной последовательности в константных областях иммуноглобулиновых цепей? На этот вопрос ответили Драйер и Ф. Беннетт, предполагая, что вариабельные и константные области кодируются отдельными генами, причем существует множество генов для вариабельных (V) и один или весьма ограниченное число генов для константных (C) областей. Теперь оставалось только объяснить источник многообразия вариабельных областей. Основой для этого стала идея соматического мутагенеза, согласно которой из отоселективно небольшого числа гаметных генов (гены зародышевой линии) в течение жизни индивида возникает множество модифицированных, т. е. подвергшихся мутациям генов. Кроме того, было высказано предположение, что полным V-ген может появляться в результате рекомбинации ряда гетных сегментов. При разрезании и соединении фрагментов ДНК между ними могут встраиваться добавочные нуклеотиды, создавая дополнительную вариабельность, названную N-региональной, поскольку новая нуклеотидная последовательность отличается от гаметной. Вместо мутаций источником разнообразия вариабельных областей могла бы служить, как предполагалось, гетная конверсия с участием набора псевдогенов. В итоге было определено пять возможных источников разнообразия антигенраспознающих струк-

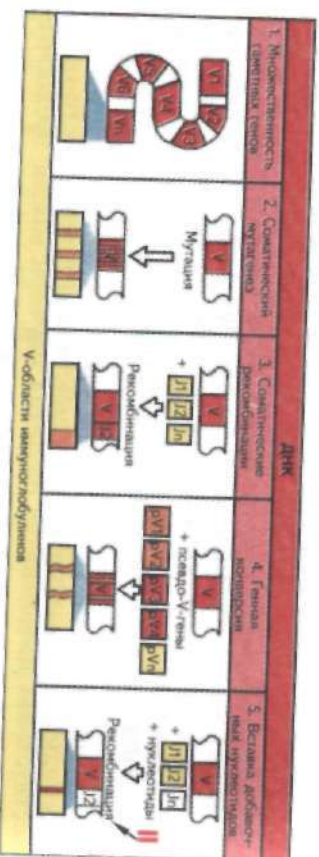


Рис. 28. Источники разнообразия антител.

Пять возможных источников структурного разнообразия V-областей H- и L-цепей иммуноглобулинов. 1. Многочисленность тандемных генов. Имеется большое число отдельных непереставляемых генов (V<sub>H</sub>...V<sub>H</sub>), каждая из которых кодирует V-домен отдельной специфичности. 2. Соматический мутагенез. В отличие от V-клеток в результате мутаций тандемного V-гена в различных V-клеточных клонах возникают различные V-гены. 3. Соматическая рекомбинация. В отличие от V-клеток происходит рекомбинация V-генов. 4. Генная конверсия. Отрезки ДНК, принадлежащие ряду различных генидов копируются в функциональном V-гене, меняя его последовательность ряда последовательностей. 5. Вставка дополнительных нуклеотидов. При рекомбинации перекрестном соединении вырезанных V- и J-сегментов ДНК возможно встраивание между ними дополнительных нуклеотидов, кодирующих дополнительные аминокислотные остатки V-областей. Все эти пять механизмов служат источниками разнообразия антигенов у млекопитающих.

тур; множественность гаметных тенор V-областей; соматический мутагенез; соматические рекомбинации между сегментами, образующими полный V-ген; тенные конверсии; вставки дробящихся нуклеотидов.

Сетолния известно, что у млекопитающих для создания разнообразия антител могут действовать все эти пять механизмов (рис. 28). Примечательно, что акулы располагают значительным числом кодирующих антигена генов и «не испытывают необходимости» в соматических рекомбинациях, тогда как у курятины число генов антител ограничено, и для этого вида характерен высокий уровень геновой конверсии.

### 3.3. РАСПОЗНАВАНИЕ АНТИГЕНА

- Антигела высокоспецифичны по отношению к трехмерной конформации эпитопов антигена, вызвавшего их образование.

• Аффинность (сродство) антигена — мера прочности связи антигенсвязывающего центра молекулы антигена с отдельным эпитопом антигена. Функциональная аффинность, или авидность, взаимодействия антиген с антигеном определяется также числом антигенсвязывающих центров в молекуле антигена и их способностью связываться с многочисленными эпитопами данного антигена.

• Т-клетки распознают связанные (презентируемые) другими клетками антигены в ассоциации с молекулами МНС класса I или класса II. Пептидные фрагменты процессированных антигенов связываются в специальной полости молекул МНС.

• Молекулы МНС класса I и класса II презентруют пептиды соответственно эндогенных и экзогенных антигенов. В зависимости от своего происхождения процессированные антигены встречаются и связываются с молекулами МНС в различных внутриклеточных органах.

• Антигенные пептиды, связываемые молекулами МНС класса I, образуются в цитоплазме в результате расщепления антигенов оргanelлами, называемыми протеасомами. Движение этих пептидов по эндоплазматическому ретикулуму обеспечивают транспортные белки из суперсемейства ABC. Комплекс из трех компонентов — тяжёлая цепь класса I —  $\beta_2$ -микроглобулин — пептид — перемещается на клеточную поверхность.

• Антигенные пептиды, связываемые молекулами МНС класса II, образуются из поглощенных путем эндоцитоза экзогенных антигенов, в результате их процесса в эндосомах или лизосомах. Молекулы МНС класса II в составе комплекса с инвариантной (Ii) полипептидной цепью транспортируются через комплекс Гольджи в эндосому, где утрачивается Ii-цепь в результате диссоциации и присоединяют антигенные пептиды.



• Комплексы антигенных пептидов с молекулами МНС, экспонированные на клеточной поверхности, могут распознаваться специфическими рецепторами Т-лимфоцитов. Однако для последующей активации Т-лимфоцитов требуется ряд дополнительных взаимодействий с участием вспомогательных молекул.

Антигены и антигенраспознающие рецепторы Т-клеток обладают рядом общих свойств. В составе тех и других имеются константные (C) и вариабельные (V) домены; кроме того, сходным образом происходит рекомбинация генов V-, D- и J-сегментов, кодирующих V-домена этих молекул. Тем не менее механизмы распознавания антигена В- и Т-клетками различны. Антигены способны распознавать антигены и в растворе, и на поверхности клеток, но всегда в нативной конформации. Для распознавания антигена рецепторами Т-клеток обязательно требуется его ассоциация с молекулами МНС на клеточной поверхности. Часто антиген, распознаваемый Т-клетками, подвергается предварительному расщеплению, или, иначе, протеолитическому расщеплению, которую распознает ТкР, представляет собой лишь небольшой фрагмент исходного антигена. Еще одно отличие антигенов от ТкР заключается в том, что первые существуют в двух формах — в виде В-клеточных антигенсвязывающих рецепторов и в виде выделяемых клеткой молекул, а ТкР — это всегда сложный комплекс белков клеточной мембраны. Секретируемые клеткой антигены чаще всего представляют собой бифункциональные молекулы, их V-домены предназначены для связывания с антигенами, тогда как C-домены взаимодействуют с рецепторами на клетках организма-хозяина или с компонентами комплекса.

В этом разделе рассмотрено строение антигенсвязывающих центров молекул антигенов и ТкР, а также их взаимодействие со специфическими антигенами или комплексами антиген — МНС. Избирательность таких взаимодействий лежит в основе специфичности приобретенного иммунитета.

### 3.3.1. СВЯЗЫВАНИЕ АНТИГЕНА С АНТИГЕНОМ

Между антигеном и антигеном образуется множество нековалентных связей. Методом рентгенооструктурного анализа V-доменов установлено, что на концах Fab-ветвей молекул антигенов сосредоточены гипервариабельные участки полипептидной цепи. Отдельные аминокислотные остатки в этих участках специфически взаимодействуют с эпитопами антигена. Каркасные остатки в тех же участках, обычно не принимающие участия в связывании антигена, имеют весьма существенное значение для укладки V-домена, которая обеспечивает адекватную конформацию антигенсвязывающего центра.

При контакте специфических антигенов с антигеном между аминокислотными остатками антигенсвязывающего центра и эпитопа антигена образуются многочисленные нековалентные связи. По сравнению с ковалентными связями силы нековалентного межмолекулярного взаимодействия (водородные связи, электростатические, ван-дер-ваальсовы и гидрофобные взаимодействия) по отдельности весьма слабы, однако при большом числе слабых взаимодействий суммарная энергия связывания получается значительной.

Конформации антигенсвязывающего центра антигена и антигена-мишени комплементарны. Сила нековалентной связи зависит прежде всего от расстояния (d) между взаимодействующими химическими группами. При электростатических взаимодействиях она пропорциональна  $1/d^2$ , а при ван-дер-ваальсовых —  $1/d^7$ , т. е. становится значительной только при тесном сближении молекул (рис. 29). Для связывания антигенной детерминанты (эпитопа) с антигенсвязывающим центром антигена (паратопом) требуется взаимное притяжение атомных групп на участках молекул

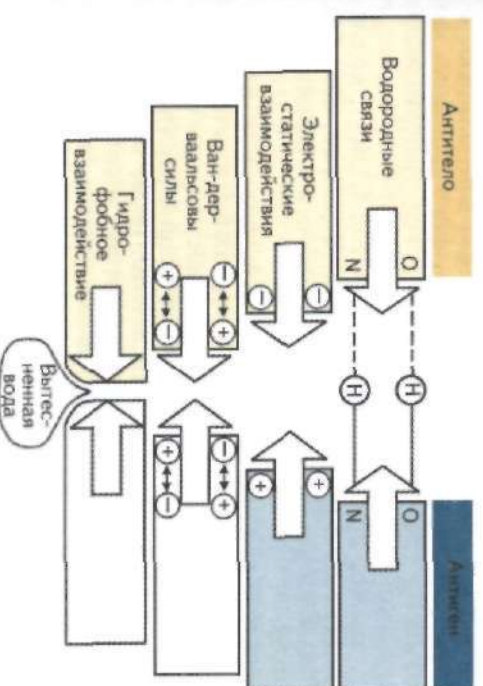


Рис. 29. Силы межмолекулярного притяжения.

Для возникновения сил связывания (между антигеном и антигеном) требуется тесное сближение взаимодействующих атомных групп. Водородные связи образуются за счет водородных мостиков между такими группами. Электростатическое взаимодействие возникает вследствие притяжения противоположно заряженных атомных групп, расположенных на боковых цепях взаимодействующих белков. Ван-дер-ваальсовы силы обусловлены взаимодействием между электронными оболочками молекул (в данном случае между индуцированными ковалентными диполями). Гидрофобное взаимодействие, способное обеспечить до  $1/2$  общей энергии связи между антигеном и антигеном, — это сильное притяжение в воде между неполярными (гидрофобными) группами, которое почти полностью устраняет их контакт с водой. В зависимости от типа связи различаются величины оптимального для связывания расстояния между взаимодействующими группами.



антигена и антитела, контактирующих благодаря соответственно (комплементарности) конформации эпитопа и паратопа, и одновременно образование в результате нескольких нековалентных связей. При определенном уровне комплементарности величина энергии притяжения становится достаточной, чтобы не происходило термодинамического разрыва связей. В то же время при прекрывании электронных оболочек молекул антигена и антитела между ними возникают силы отталкивания, величина которых обратно пропорциональна 12-й степени величины межмолекулярного расстояния  $F_{\text{отт}}/d^{12}$ . Именно действием этих сил обусловлена специфичность антител к данному антигену (т. е. способность различать антигены), поскольку любое искажение идеально комплементарных конформаций вызывает снижение общей энергии связывания вследствие нарастания сил отталкивания и уменьшения сил притяжения.

При изучении взаимодействия между лизоцимом и Фаб-фрагментом антилизоцимных антител было обнаружено, что поверхности эпитопа и паратопа комплементарны, причем и за пределами гипервариабельных участков. В общей сложности 17 аминокислотных остатков молекулы антитела контактируют с 16 остатками в молекуле лизоцима. В формировании антиген-связывающего центра вносят вклад все гипервариабельные участки легкой и тяжелой цепей иммуноглобулина, но, помимо V-D-J-сегментов гена тяжелой цепи. Вероятно, это обусловлено его большей вариабельностью за счет рекомбинации V-, D- и J-сегментов.

**Аффинность и авидность антител.** Аффинность антител — это прочность связи одного антигенсвязывающего центра с индивидуальным эпитопом антигена. Аффинность, или сродством, антител к антигену называют силу их взаимодействия (прочность связи), результирующую перечисленные выше силы притяжения и отталкивания (рис. 30). Взаимодействие антигенсвязывающего центра с антигеном можно исследовать термодинамическим методом. Для измерения аффинности отдельного антигенсвязывающего центра используют моновалентный антиген, или, точнее, изолированную антигенную детерминанту (гаптен). Поскольку нековалентные связи между паратопами и эпитопами способны диссоциировать, образование иммунных комплексов — процесс обратимый; применив к нему закон действующих масс, можно определить константу равновесия K, которая, собственно, и представляет собой константу аффинности (сродства).

**Авидность антител** — это суммарная сила взаимодействия антитела с антигеном. Основная единица молекул иммуноглобулинов, состоящая из четырех полипептидных цепей, содержит два антигенсвязывающих центра, поэтому антитела потенциально поливалентны по отношению к антигену. Кроме того, сами антите-

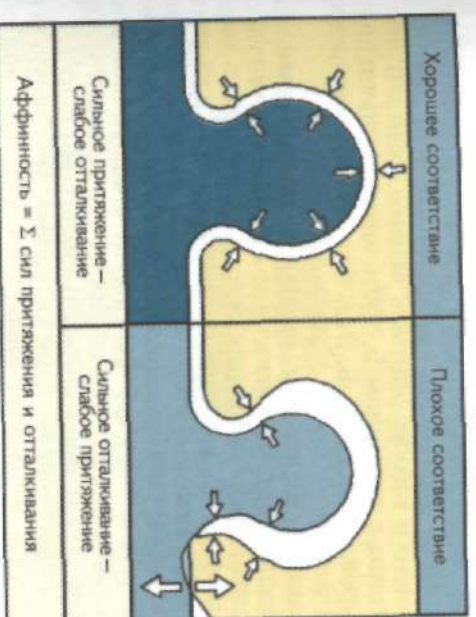


Рис. 30. Хорошее и плохое пространственное соответствие.

Аффинность антитела к антигену — это результирующая возникающих между ними сил притяжения и отталкивания. Высокоаффинные антитела точно комплементарны по конформации антигену, а низкоаффинные, напротив, неточно.

ны могут быть моновалентны (например, гаптены) или поливалентны (в частности, микробные клетки). В отличие от аффинности как меры сродства между отдельной антигенной детерминантой и антигенсвязывающим центром сила взаимодействия поливалентных антител с поливалентным антигеном названа *авидностью*. Она зависит от сродства индивидуальных антиген-связывающих центров к детерминантам данного антигена, но вследствие усиливается прочность их соединения, поскольку для диссоциации иммунных комплексов необходим разрыв сразу всех связей. Применительно к физиологическим условиям более адекватно рассматривать авидность, а не аффинность антител, поскольку природные антигены обычно поливалентны. Однако для изучения иммунохимических аспектов взаимодействия антител с антигеном требуется точное измерение аффинности антител к гаптенам.

**Специфичность и аффинность антител.** Реакция антител — антитело свойственна высокой специфичности. Например, противокоревые антитела связываются с вирусами кори и создают иммунитет к этому заболеванию, но не способны связаться с вирусами других видов, в частности с вирусами полиомиелита, и не защищают от них организм. Специфичность антисыворотки суммарно отражает специфичность содержащихся в ней антител, в популя-



ции которых может присутствовать множество паратопов, способных связываться с различными эпитопами или даже с разными частями одного и того же эпитопа. Однако, если антиген А имеет общие эпитопы с антигеном В, часть антигел, специфичных к А, будет реагировать также и с В. Этот феномен назван перекрестной реактивностью.

**Распознавание антигенами наружной конформации антигенов.** Антигела распознают, разумеется, не отдельные химические группы, а пространственную форму эпитопов, причем с поразительной специфичностью, улавливая кроме различий в распределении зарядов (в оптической и стереоизомерии) также и минимальные различия в первичной аминокислотной последовательности (в случае белковых антигенов). Вследствие столь тонкой специфичности большая часть антигел способна связываться только с нативными (не денатурированными) антигенами или с такими фрагментами антигена, которые сохраняют третичную структуру, необходимую для множественных взаимодействий при образовании связи между паратопом и эпитопом.

В связи с этим в иммунологических исследованиях при изучении специфических антигел могут возникать затруднения. Для упрощения работы в качестве антигена часто используют специально синтезированные короткий полипептид известной первичной структуры, поскольку это легче, чем путем очистки получить достаточное количество нативного антигена. Однако антигел, образуясь в результате иммунизации синтетическими пептидами, часто не обладают требуемой специфичностью и аффинностью к антигену в его нативной форме.

### 3.3.2. РАСПОЗНАВАНИЕ АНТИГЕНА Т-КЛЕТКАМИ

Т-клетки распознают антиген, связанный другими клетками и представленный на их поверхности в ассоциации (комплекс) с молекулами МНС класса I или II, функционирующими как «системы наведения» для Т-клеток. Необходимость ассоциации с молекулами МНС называют иначе *МНС-рестрикцией*. Принцип такой рестрикции (ограничения) наиболее очевидно выявляется при Т-клеточном иммунном ответе на экспериментально вирусную инфекцию у мыши (рис. 31). Цитотоксические Т-лимфоциты (Тл) зараженного животного способны поражать инфицированные вирусом клетки-мишени того же самого, но не иного Н-2-галоטיפа. Преимущество такой системы двойного распознавания чужеродных антигенов состоит в том, что свободный (не ассоциированный с молекулами МНС) вирус не может полностью заблокировать все специфичные к нему Тл-рецепторы. Еще более важно, что благодаря МНС-рестрикции Т-клетки способны отличать эндогенные антигены от экзогенных.

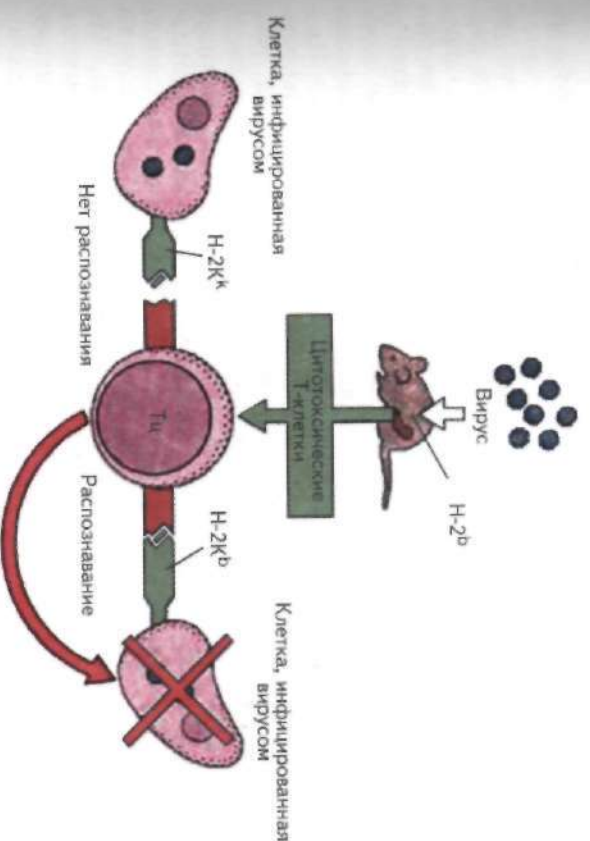


Рис. 31. МНС-рестрикция цитотоксической активности Т-лимфоцитов.

Рестриктирование по галотипу поражение инфицированных вирусом клеток-мишеней цитотоксическими Т-лимфоцитами (Тл). Мышей галоטיפа Н-2<sup>b</sup> инфицировали вирусом, после чего из селезенки выделили Тл и опреселяли их способность поражать инфицированные тем же вирусом клетки-мишени галоטיפов Н-2<sup>a</sup> и Н-2<sup>b</sup>. Тл поражают клетки-мишени Н-2<sup>b</sup>, но не Н-2<sup>a</sup>, т.е. Т-клетки распознают специфическую структуру, возникающую в результате ассоциации продукта класса I Н-2К (или Н-2Д) с вирусным антигеном (например, комплексом вирус/Н-2К). В контрольном эксперименте клетки-мишени обоих галоטיפов обработаны антигенами, распознающими отпочковывающийся вирус и не опрививаемыми в своем эффекте патогеном. В результате противоповирусные антитела и комплекс поражает инфицированные клетки-мишени независимо от галоטיפа

На сходных принципах рестриктированного по МНС распознавания основано функционирование хелперных Т-клеток (Тх). Они распознают антиген, например, на макрофагах и В-клетках, в ассоциации с молекулами МНС класса II, которые служат для передачи сигналов распознавания между антигенпрезентирующими клетками (в частности, макрофагами) и Тх.

### 3.3.3. ПРОЦЕССИНГ И ПРЕЗЕНТАЦИЯ АНТИГЕНА

Презентация антигенов Т-клеткам предшествует процессинг. Циркулирующие антигел и реакции клеточного иммунитета, как правило, специфичны в отношении разных детерминант одного и того же антигена. Например, у мыши В-клетки распознают ами-



ноконцевые эпитопы глюкогона, тогда как Т-клетки — его карбоксиконцевые детерминанты.

Это происходит благодаря тому, что презентируются не интактные молекулы антигена, а их фрагменты (продукты расщепления, или процессинга — переработки) в ассоциации с продуктами МНС на клеточной поверхности. Клетки, процессирующие антиген для презентации, — это либо специализированные антигенпрезентирующие клетки (АПК), способные стимулировать пролиферацию Т-клеток, либо инфицированные вирусами клетки организма, которые затем становятся мишенями для Т<sub>H</sub>.

Процессинг антигена заключается в его расщеплении на пептидные фрагменты. Подавляющее большинство эпитопов, распознаваемых Т-клетками, представляет собой фрагменты пептидной цепи, часто не доступные для иммунного распознавания в составе молекул интактного белка. Только малая часть пептидных фрагментов белкового антигена способна связаться с соответствующей молекулой МНС. Более того, разные молекулы МНС связывают различные наборы пептидов. Например, Т<sub>H</sub>-клетки мышей разных гаплотипов (т. е. носителей различных молекул МНС) распознают разные пептиды вирусного антигена. Эти различия распознавания обусловлены главным образом способностью данного пептида связываться с определенной молекулой МНС класса II.

Перед связыванием с молекулами МНС белковые антигены расщепляются на пептиды. Процессинг антигенов, в результате которого образуются пептиды, способные связаться с молекулами МНС, происходит во внутриклеточных органолах антигенпрезентирующих клеток (рис. 32).

Для целей исследования процесс расщепления антигена можно исключить, используя в качестве антигенов синтетические пептиды. Применение именно таких легкосинтезируемых пептидов с

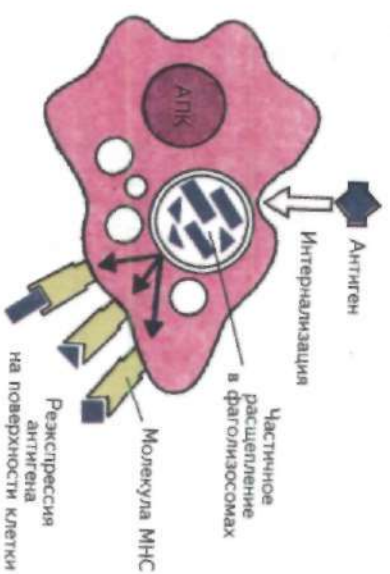


Рис. 32. Процессинг антигена.

Экзогенные антигены захватываются антигенпрезентирующими клетками, а затем расщепляются их протеолитическими ферментами в специализированных интраклеточных отделах (компартментах). Антигенные пептиды образуют комплекс с молекулами МНС класса II в везикулах, которые, направляясь к поверхности клетки, движутся навстречу эндотермальным везикулам

известной аминокислотной последовательностью позволило идентифицировать эпитопы, распознаваемые Т-клетками различной специфичности. Аминокислотные замены в различных позициях дали возможность выяснить сравнительное значение того или иного аминокислотного остатка в составе определенных эпитопов. Кроме того, при помощи пептидов известной структуры была доказана способность молекул МНС классов I и II к прямой связыванию фрагментов антигена. Путем сравнения эффектов аминокислотных замен, т. е. их влияния на МНС-связывание и Т-клеточную реактивность, удалось установить, какие именно аминокислотные остатки контактируют с молекулой МНС и с Т-клеточным рецептором. Например, фрагмент, состоящий из остатков 52...61 полипептидной цепи лизоцима, являющегося белком, распознают Н-2-IA<sup>k</sup>-рестриктированные Т-клетки. Этот пептид связывается с молекулами IA<sup>k</sup>. Как установлено, в его пептид связывается с продуктами МНС класса II принимают участие три аминокислотных остатка, в то время как три других остатка осуществляют контакт с ТкР.

Образование комплекса антигенный пептид — молекула МНС происходит следующим образом. Полость в молекуле МНС, где происходит связывание антигенных пептидов, имеет разнообразную форму и шели, а также выступающие и утопленные участки карманы и шели, а также выступающие и утопленные участки поверхности. Их тонкая топология отчасти зависит от «выступающих» эту полость аминокислотных остатков и поэтому различается у молекул МНС разных гаплотипов. Параметры связывания пептида с молекулой МНС зависят от природы его боковых цепей и от взаимной комплементарности контактирующих участков обоих партнеров ассоциации. Определенная часть боковых цепей пептида не участвует во взаимодействии с молекулой МНС и предназначена для контакта с ТкР.

Образование комплексов из антигенных пептидов и молекул МНС происходит в специализированных внутриклеточных органолах, при этом взаимодействие с молекулами класса I и класса II происходит в различных участках клетки.

Как установлено недавно, при процессинге эндогенных антигенов партнеры взаимодействия могут и физически, и функционально ассоциироваться друг с другом. Например, новосинтезированные комплексы из молекул МНС класса I и В<sub>2</sub>-микроглобулина ассоциируются с ТкР в эндоплазматическом ретикулеуме (ЭР) и диссоциируют после переноса из ЭР на цис-сторону процесса Гольджи. Компартментализация различных продуктов процессинга способствует, предположительно, наиболее эффективному накоплению антигенных пептидов и антигенпрезентирующих клеток. Антигенные пептиды, перенесенные в ЭР, образуют комплексы с молекулами МНС класса I (рис. 33). Образование таких комплексов — это сложный процесс, в котором принимают участие белки-«шпероны» (т. е. спутники, помощники), такие, как



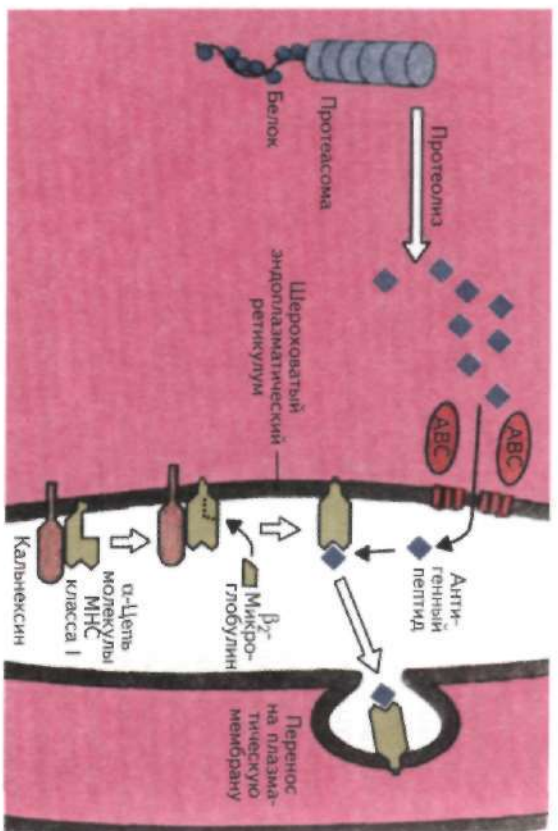


Рис. 33. Образование комплексов антигенных пептидов эндогенного происхождения с молекулами МНС класса I.

Предполагаемая последовательность образования комплексов антигенных пептидов — молекула МНС. Цитоплазматические антигены процессируются протеасомами, две субъединицы которых кодируются генами LMP2 и LMP7 из комплекса МНС. Перенос пептидов осуществляется для транспортных белков (из суперсемейства ABC), кодируемых генами TAP1 и TAP2, также отнесёнными к МНС. Антигенные пептиды образуют комплекс с тяжёлыми цепями молекулы МНС класса I и β-2-микроглобулином в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР). Молекулярные шапероны, такие как кальнексин, присоединяются к ещё не полностью готовым комплексам антигенных пептидов — молекулы МНС класса I. После этого готовые комплексы транспортируются на поверхность клетки.

Кальнексин. Шапероны инициируют и организуют сборку стабильного, транспортируемого на поверхность клетки комплекса, состоящего из тяжёлой цепи класса I, β-2-микроглобулина и антигенного пептида. В отсутствие антигенного пептида такие комплексы нестабильны, поэтому T-клеткам могут быть представлены (презентированы) только комплексы, полностью функционально активные.

Молекулы МНС класса II образуют комплексы с антигенными пептидами экзогенного происхождения в эндосомах. Установлено, что α- и β-цепи молекул МНС класса II находятся в ЭР в виде комплексов с полипептидом, который был назван инвариантной цепью (i); этот белок кодируется геном, не относимым к МНС. Комплекс αβ-i транспортируется через аппарат Гольджи в эндосому или лизосому, где в кислой среде происходит освобождение i. На основании экспериментальных данных можно предполагать, что диссоциация i из αβ-комплекса позволяет антигенному

пептиду занять его место. Комплекс молекул МНС класса II с антигенным пептидом находится в эндосоме/лизосоме 1...3 ч, прежде чем поступает на клеточную поверхность. Каким образом пептиды экзогенных антигенов встречаются с молекулами класса II в соответствующих клеточных органолах? Для ответа на этот вопрос нужно рассмотреть пути внутриклеточ-

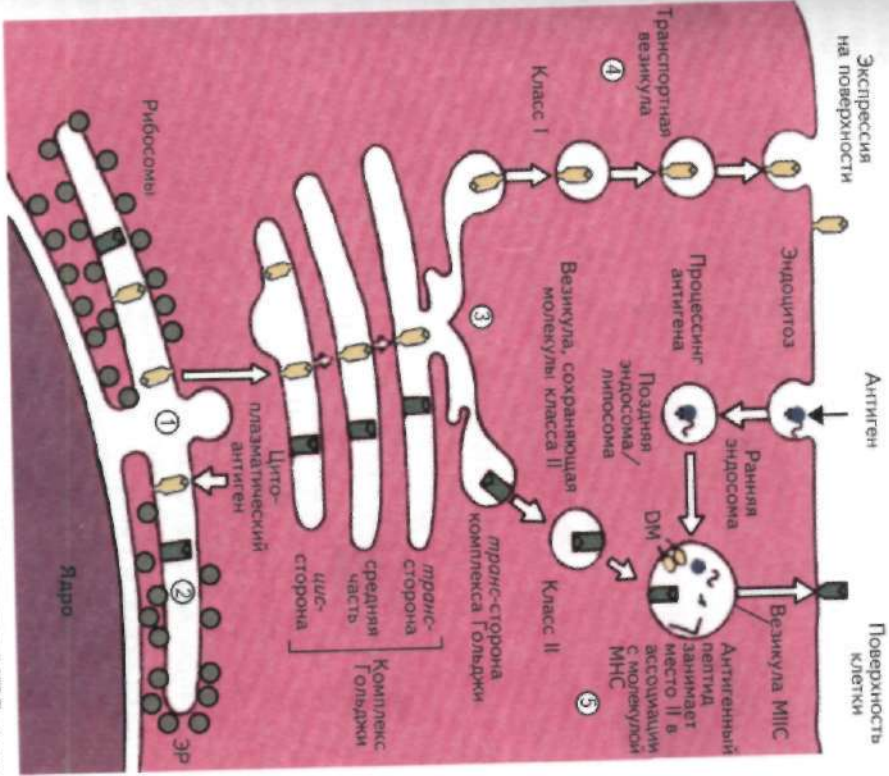


Рис. 34. Предполагаемые пути внеклеточных переносов молекул МНС, связанных с презентацией антигена.

Новосинтезированные молекулы класса I ассоциируют с антигенным пептидом (1). Молекулы класса II присоединяют цепи i в полости ЭР (2). Белок i представляет ассоциацию молекул класса II с антигенными пептидами и содержит последовательности, которые позволяют этим молекулам выйти из ЭР. Молекулы класса I и класса II распадаются после прохождения через аппарат Гольджи (3). Молекулы класса I направляются непосредственно к клеточной поверхности (4). Молекулы класса II поступают в кислый компартмент — везикулу МНС, где образуют комплекс с пептидами экзогенного происхождения, после того как инвариантный пептид SLIP покинет пептидсвязывающую полость.



ных перемещений молекул МНС. После сборки комплексов в Эр молекулы обоих классов МНС проходят через комплекс Гольджи — молекулы класса I в ассоциации с антигенными пептидами эндогенного происхождения и молекулы класса II, связанные с инвариантной цепью (Ii). Молекулы МНС одного класса отделяются от молекул другого на *транс*-стороне комплекса Гольджи. Затем молекулы класса II на пути к плазматической мембране попадают в особые эндосомы или лизосомы, которые отличаются от обычных тем, что, по-видимому, специально предназначены для накопления и транспорта этих молекул (рис. 34).

Главным достижением исследований последних лет стала идентификация клеточных органелл (везикул), в которых молекулы МНС класса II ассоциируют с антигенными пептидами. Эти везикулы, называемые МПС, имеют сложную мембранную структуру (при электронной микроскопии она выглядит наподобие лужковой кожицы) и обладают одновременно свойствами эндосом и лизосом.

Ключевая роль в образовании комплексов с антигенными пептидами принадлежит, как выяснилось, молекуле HLA-DM, сходной с молекулами класса II. Эта молекула состоит из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей, кодируемых генами DMA и DMB (область класса II комплекса HLA). У линий мутантных клеток, лишенных этих генов, молекулы класса II нестабильны, а сами эти клетки не способны процессировать и презентировать белковые антигены. Когда из таких мутантных клеток были выделены молекулы класса II, а затем проанализированы связанные с ними пептиды, оказалось, что в основном это инвариантный полипептид, CLIP (от англ. class II associated invariant peptide). Как установлено, HLA-DM катализирует диссоциацию CLIP из комплекса с молекулой класса II в кислой среде *in vitro*, открывая возможность связывания с ней пептидов экзогенного происхождения. По всей вероятности, экзогенный антиген попадает в антигенпрезентирующие клетки путем опосредованного рецепторами или жидкофазного эндоцитоза. Ферментативное расщепление эндоцитированных белков происходит в эндосомах или лизосомах, и образовавшиеся пептиды связываются с молекулами класса II при участии HLA-DM в качестве катализатора. После этого новообразованный комплекс направляется к поверхности клеток.

### 3.4. РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

• Цитокинам принадлежит центральная роль в положительной и отрицательной регуляции иммунного ответа, а также в его ингибировании с физиологическими функциями других систем организма — эндокринной и гемopoэтической.

• Распознавание микробных структур происходит в самом начале реакции организма на инфекцию, до развития специфичес-

кого иммунного ответа. Тип последующего ответа зависит в основном от выделяемых цитокинов.

• Регуляцию иммунного ответа осуществляют различные наборы клеток (Тх). Отвечая на антиген, они выделяют различные наборы цитокинов и тем самым инициируют разные эффекторные функции. Так, Тх1-клетки активируют макрофаги, а Тх2-клетки способствуют образованию антигенов. Если активирована неадекватная эффекторная функция, элиминация возбудителя не происходит и развивается хроническая иммунопатология.

• Иммунный ответ Тх1-типа подавляет ответ Тх2-типа и наоборот.

• Большинство цитотоксических Т-клеток распознает антиген, презентированный в ассоциации с молекулами МНС класса I, тогда как НК-клетки реагируют на мишени, не экспрессирующие эти молекулы.

• Цитотоксическая активность клеток-киллеров — это комбинация воздействия на клетки-мишени путем прямого контакта, выделения цитокинов и эндоцитоза белков из гранул, в частности перфорины и гранзимов.

• Активированные макрофаги уничтожают поглощенные микроорганизмы при помощи высокоактивных метаболитов кислорода и азота.

• Когда реакции клеточного иммунитета не обеспечивают устранения инфекции или персистирующего антигена и поэтому не могут завершиться, в тканях возникает хронический деструктивный воспалительный процесс или образуются гранулемы. При этом непосредственное разрушение жизненно важных клеток или вторичные микрососудистые нарушения, обусловленные избыточным выделением цитокинов, могут стать причиной иммунопатологии.

Термин «клеточный иммунитет» (иммунитет, опосредованный клетками) первоначально служил для обозначения местных реакций (обычно на внутриклеточно локализовавшиеся возбудители), осуществляемых лимфоцитами и фагоцитами без участия антигенов — эффекторов гуморального иммунитета. Теперь этот термин часто используют в более широком смысле для описания такого противоионфекционного или противоопухолевого иммунного ответа, в котором антигенам принадлежит не ведущая, а вспомогательная роль.

Однако полностью разделить клеточный и гуморальный иммунитет невозможно: в инициации образования иммунного ответа клетками, а в некоторых реакциях клеточного иммунитета важную роль играют функции выполняющих антигенов. Более того, не существует, по-видимому, клеточного иммунитета без образования антигенов, которые способны различными путями модифицировать опосредованный клетками иммунный ответ. Так, комплексы антиген-антиген вызывают высвобождение хемотаксических

фрагментов компонента, усиленно привлекающих лейкоциты в очаг воспаления, и, кроме того, благодаря Fc-рецепторам антигенов могут принимать участие в связывании антигенов с клетками и тем самым влиять на реакции клеточного иммунитета, в частности обеспечивать прикрепление фагоцитов и цитотоксических Т-клеток к клеткам-мишеням. Вообще, при скоординированном иммунном ответе происходит многосторонний обмен сигналами между различными типами вступающих в него лейкоцитов и тканевыми клетками.

Межклеточная сигнализация в иммунной системе осуществляется путем непосредственного контактного взаимодействия клеток, в котором участвуют их поверхностные молекулы, или помощи цитокинов, называемых «белками связи». Эти белки действуют как растворимые медиаторы межклеточных взаимодействий. Вместе с гормонами и нейромедиаторами они составляют основу языка химической сигнализации, путем которой в многоклеточном организме регулируется морфогенез, регенерация тканей и иммунный ответ. Наряду с сигналами, возникающими при взаимодействии клеток с антигеном или друг с другом, существуют цитокиновая сигнальная сеть, регулирующая реакции врожденного и приобретенного иммунитета, в том числе воспаление, противовирусную защиту, клональную пролиферацию антигенспецифических Т- и В-лимфоцитов и их функции.

### 3.4.1. ЦИТОКИНЫ И ИХ КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Цитокины — это небольшие белки (молекулярная масса от 8000 до 80 000), действующие аутокринно (т. е. на клетку, которая их продуцирует) или паракринно (на клетки, расположенные вблизи). Образование и высвобождение этих высокоактивных молекул обычно происходит одновременно и жестко регулируются. К настоящему времени идентифицировано уже более ста различных цитокинов, и постоянно появляются сообщения об открытии новых. Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на плазматической мембране и вызывая этим каскадную реакцию, ведущую к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов.

Многие цитокины имеют по несколько названий. Это связано с тем, что они были независимо открыты в различных областях исследований — иммунологии, вирусологии, гематологии, клеточной биологии и онкологии. К цитокинам относятся интерлейкины (ИЛ), обозначаемые сейчас номерами от ИЛ-1 до ИЛ-18, интерфероны (ИФ), колонистимулирующие факторы (КСФ), факторы некроза опухоли (ФНО), факторы роста и хемокины (хемотаксические цитокины) (см. ниже).

#### Наиболее известные цитокины

Колонистимулирующие факторы	КСФ	М-КСФ, Г-КСФ, ГМ-КСФ
Хемокины	ИЛ	RANTES, MCP-1
Интерлейкины	ИФ	ИЛ-1, ИЛ-2 и т. д.
Интерфероны	ФНО	ИФ $\alpha$ , ИФ $\beta$ , ИФ $\gamma$
Факторы некроза опухоли	ФР	ФНО $\alpha$ , ФНО $\beta$
Факторы роста		ФРН, ФР $\beta$

Примечание. Номенклатура цитокинов отражает ту функциональную активность, по которой каждый из них был впервые обнаружен, а также степень их обнаружения.

Причина многих недоразумений в номенклатуре цитокинов состоит в том, что они, по крайней мере *in vitro*, проявляют разнообразные активности; примером может служить ИЛ-6, эффекты которого очень разнообразны (рис. 35). Кроме того, в ряде случаев один и тот же цитокин был выделен независимо в нескольких лабораториях при использовании совершенно разных экспериментальных систем. Путаницу с названиями усугубляет еще и частичное совпадение активностей у ряда цитокинов, создающее впечатление некоторой избыточности их функций. Дополнительно трудности в изучении цитокинов возникают из-за того, что эти медиаторы редко образуются по отдельности и, как правило, нередко действуют поодиночке.

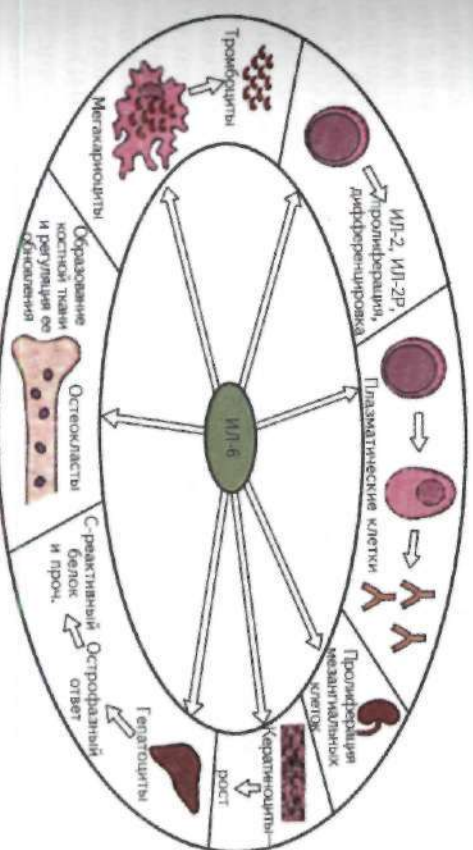


Рис. 35. Функциональная активность интерлейкина-6 (ИЛ-6).

Цитокин ИЛ-6 оказывает типичное для цитокинов разноплановое воздействие на многие системы органов. В частности, он стимулирует образование и активность остеокластов, особенно после падения концентрации эстрогенов.



Для циткинов характерен сложный характер функционирования, при котором продукция одного из них влияет на образование или проявление активности ряда других. *In vivo* отдельные клетки организма редко становятся мишенью какого-либо одного циткина. Гораздо чаще отдельные циткины служат как бы булавками некоего алфавита, образующими целое циткиновое «слово», и реакция клетки возникает в результате воздействия на ее поверхность именно такого «слова».

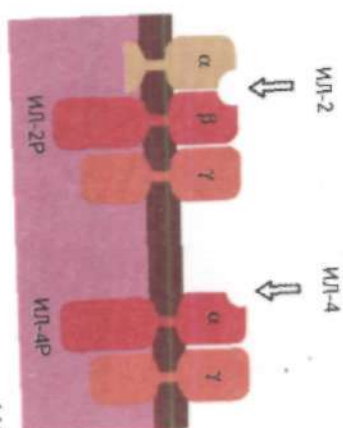
Нанодол, важные функции цитокиннов и их рецепторов в иммунном ответе будут рассмотрены ниже; вначале необходимо обогатиться на основных аспектах молекулярной биологии этих белков.

Цитокины и их рецепторы подразделяются на ряд семейств. Между индивидиальными цитокинами или их группами существует лишь небольшое сходство на уровне ДНК и аминокислотной последовательности, но все же они распределяются по гомологии на несколько больших семейств. Из них наиболее значительны три семейства: первое состоит из не менее чем 15  $\alpha$ -интерферонов (ИФ $\alpha$ ), второе — более чем из 50 хемокинов (по данным анализа генома), и третье включает цитокины, которые связываются с рецепторами для ФНО. Гораздо легче, однако, сгруппировать цитокины не по функциям, а по характеру их трехмерной структуры, и такое подразделение четко отражает внутригрупповое сходство (по конформации и аминокислотной последовательности) клеточных цитоклиновых рецепторов. Наиболее крупное семейство — суперсемейство — цитоклиновых рецепторов характеризуется наличием в составе молекул внеклеточных участков с гомологичной последовательностью длиной примерно 200 аминокислотных остатков. К этому суперсемейству относятся рецепторы для ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-12, трансуллоцитарному колониестимулирующему фактору (Т-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору (ГМ-КСФ). В него же входят рецепторы для гуморальных факторов, действующих преимущественно вне иммунной системы, — гормона роста и пролактина. Второе по величине семейство объединяет рецепторы к интерферонам всех типов, а также рецепторы для ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и макрофагального колониестимулирующего фактора (М-КСФ). Это семейство входит как составная часть в суперсемейство иммуноглобулиноподобных молекул.

Цитокиновые рецепторы третьего семейства связывают ФНО $\alpha$  и ФНО $\beta$ , лимфотоксин и ряд родственных цитоклинов, в том числе фактор роста нервов (ФРН). К этому же рецепторному семейству относится молекула Fas (CD95), связывание которой с лигандом FasL служит сигналом клеточной гибели.

112

рецепторы, как правило, состоят из двух или большего числа субъединиц, которые могут иметь одинаковую структуру даже у различных по специфичности рецепторных комплексов. Обычно рецепторы содержат «частную» высокоспецифичную субъединицу, способную связывать определенный цитокин, и «общую» субъединицу, которая встречается в рецепторах для других цитокинов. Например, рецепторный комплекс для ИЛ-2 состоит из трех субъединиц ( $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ ). Субъединица ИЛ-2R $\beta$  встречается также в рецепторе для ИЛ-15, а ИЛ-2R $\gamma$  — в рецепторах для ИЛ-4, ИЛ-7 и ИЛ-9 (рис. 36). Подобным же образом ИЛ-6R $\beta$  (известный как gp130) содержится в качестве субъединицы в рецепторах для таких цитокинов, как LIF (от англ. leukemia inhibitory factor — фактор подавления лейкоза), онкостатин М и ИЛ-11. Сходная функциональная активность некоторых цитокинов отчасти объясняется, возможно, наличием одинаковых субъединиц в их клеточных рецепторах. Поэтому, видимо, ИЛ-6, ИЛ-11 и онкостатин М действуют на гепатоциты, метакариоциты и остеокласты, наковое действующий эффект ИЛ-2 и ИЛ-4 в качестве факторов роста Т-клеток обусловлен, по всей вероятности, присутствием в рецепторах для того и другого цитокина идентичной ИЛ-2R $\gamma$ -цепи. В то же время благодаря дифференциальной экспрессии частных рецепторных субъединиц каждый цитокин обладает и уникальной активностью в отношении клеток определенного типа. Например, LIF может задерживать дифференцировку эмбриональных стволовых клеток, тогда как ИЛ-6 такой активности не обладает, поскольку эти клетки не экспрессируют соответствующего рецептора. Все хемокины связываются рецепторами отдельного класса, объединенными на основе их уникальной структуры под общим названием семи трансмембранных гликопротеинов. Некоторые из них настолько специфичны, что связывают только один определенный хемокин, тогда как другие обладают средством к ряду хемокинов. Существует также один рецептор (он известен как групповой эритроцитарный антиген Даффи), который «без разбора» связывает многие хемокины и, вероятно, принимает участие в





ликации образуются в очаге воспаления избытка этих медиаторов. Хемокины связываются также с  $\beta$ -адгезорецепторами. Это еще одно свидетельство перекрывания системы цитокинов и других сетевых сигнальных систем, образуемых растворимыми медиаторами.

Связывание цитокиновых рецепторов активирует механизм внутриклеточной передачи сигналов. Современные представления о биологической роли цитокинов основаны на данных структурного анализа их молекул и изучении механизмов внутриклеточной передачи вызываемых ими сигналов. Благодаря таким исследованиям сейчас можно уже довольно детально проследить эту цепь последовательных событий белок-белкового распознавания, от момента связывания цитокина с клеточной поверхностью до мобилизации различных факторов транскрипции в ядре клетки. Как известно, первая стадия цитокиновой сигнализации — это вызванная присоединением цитокина агрегация субъединиц рецептора. Цитоплазматические «хвосты» этих субъединиц, взаимодействуя между собой, запускают нисходящий каскад сигнализации. В самом простом случае одинаковые субъединицы рецепторной молекулы, связавшись с цитокином, образуют гомодимер, в другом случае «частная» субъединица после присоединения цитокина вызывает гетеро- или гомодимеризацию «общих» субъединиц, передающих сигнал внутрь клетки (рис. 37).

Большая часть (если не все) функции цитокиновых рецепторов осуществляется с обязательной активацией Якас, или Яак-киназ (от англ. Janus kinases). Выполняя свою главную функцию, т. е. агре-

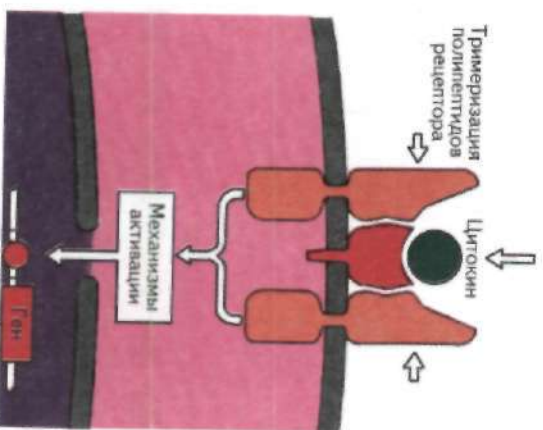


Рис. 37. Принципиальная схема взаимодействия цитокинов с клеткой.

Упрощенная схема активации клетки цитокином. (Представлено взаимодействие ИЛ-6 с его рецептором.) Связавшись с рецептором на поверхности клетки, цитокин вызывает димеризацию или полимеризацию его цитоплазматических цепей, в результате которой активируются механизмы внутриклеточной сигнализации (например, киназные каскады). Это приводит к образованию активных факторов транскрипции, которые мигрируют в ядро и связываются с экзистентами — нуклеотидными последовательностями, усиливающими транскрипцию генов, активируемых данным цитокином.

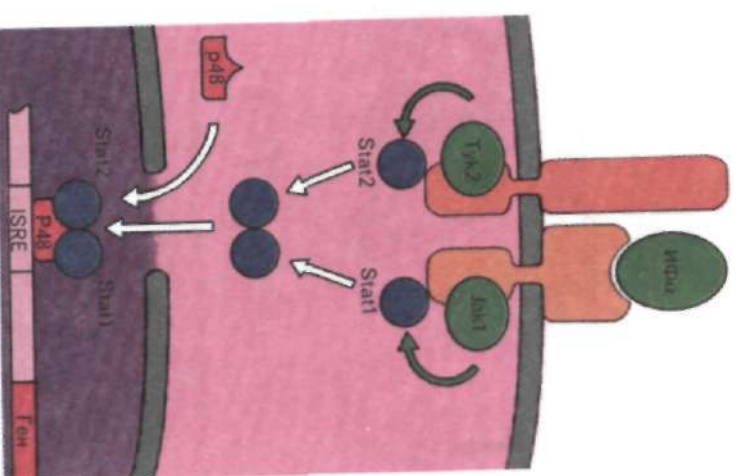


Рис. 38. Пути внутриклеточной передачи сигнала.

Схема активируемых Ифа механизмов внутриклеточной передачи сигнала. Связывание с Ифа вызывает агрегацию двух субъединиц клеточного рецептора. В результате происходит фосфорилирование двух субъединиц — Jak1 и Jak2, которые затем фосфорилируют молекулы Stat1 и Stat2. Эти факторы транскрипции образуют комплекс с белком p48, который связывается с ДНК. Образовавшийся комплекс достигает ядра клетки и индуцирует транскрипцию генов, несущих регуляторный элемент ответа на интерферон (ISRE, от англ. interferon response element).

тиру субъединицы рецептора, цитокин одновременно вызывает агрегацию Яак-киназ. Затем под действием этих Яак-киназ происходит сопряженное с присоединением цитокина фосфорилирование остатков тирозина в составе различных сигнальных белков, в том числе переносчиков сигнала и активаторов транскрипции (Stats, от англ. signal transducers and activators of transcription). Димеры белков Stats перемещаются к ядру клетки и связываются непосредственно с ДНК. Этот вид сигнализации изображен на рис. 38 на примере связывания Ифа с его клеточным рецептором. Как специфическое, так и плейотропное действие хемокинов в конечном итоге влияет на перемещение клетки, но это сложный



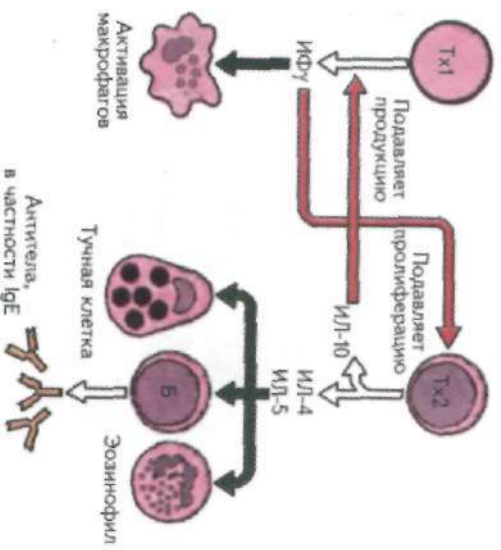


Рис. 39. Избирательная индукция хелперных механизмов Th1- и Th2-клетками. Выделяя разные наборы цитокинов, Th1- и Th2-клетки не только стимулируют различные эффекторные механизмы иммунного ответа, но и взаимно подавляют иммунорегуляторную активность друг друга.

эффект: вслед за присоединением хемокинов к рецепторам происходит передача сигнала на G-белки, затем мобилизация вторых, внутриклеточных посредников, реорганизация цитоскелета, образование ограниченных адгезивных контактов, прилипание и отлипание клеточной поверхности, выгнание и сокращение псевдоподий — все эти этапы необходимы для направленной миграции.

Дифференцировка T-хелперов на субпопуляции составляет важный этап в определении эффекторных механизмов иммунного ответа. Как теперь установлено, существуют две субпопуляции Th-клеток CD4<sup>+</sup>, различающихся по набору (профилю) синтезируемых ими цитокинов, и от этого профиля зависит, какой из двух основных типов иммунного ответа будет реализован. У человека Th1-клетки, как правило, продуцируют ИФУ, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-2 и участвуют в опосредованной клетками воспалительных реакциях. Некоторые из цитокинов, выделяемых Th1, обладают провоспалительной активностью, а также стимулируют цитотоксические клетки и T-эффекторы гиперчувствительности замедленного типа. В противоположность Th1-клеткам клетки Th2 синтезируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-10 и ИЛ-13 и усиливают образование антител, особенно класса IgE. В результате они стимулируют гиперпродукцию антител и ал-

лергические реакции. Помимо всего прочего цитокины, выделяемые Th1-клетками, подавляют активность Th2-клеток и наоборот. Таким образом, любой иммунный ответ развивается в направлении либо Th1-, либо Th2-типа (рис. 39).

### 3.4.2. ЗАЩИТНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, НЕЗАВИСИМЫЕ ОТ Т-КЛЕТОК

**Фагоцитоз — важный компонент антимикробной защиты.** Первоначальная защитная реакция на любую инфекцию в значительной степени зависит от распознавания общих для разных микробов компонентов особыми клеточными рецепторами, которые отличаются от антигенспецифических рецепторов T- и B-клеток.

Многочисленные компоненты микробных клеток способны вызывать хемотаксис фагоцитов в очаг инфекции (рис. 40). Некоторые из этих веществ, например бактериальный эндотоксин, привлекают фагоциты, индуцируя активацию комплемента по альтернативному пути с высвобождением C5a и C3a. Другие обладают собственной прямой хемотаксической активностью. Так,

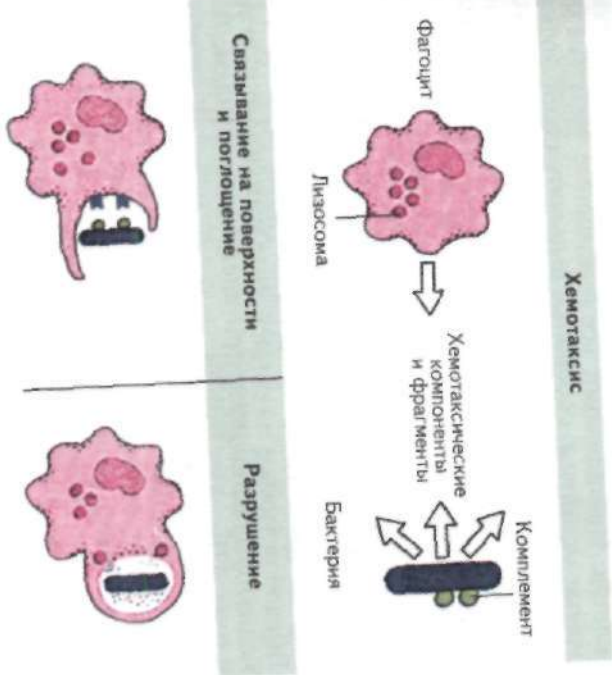


Рис. 40. Функции, независимые от Т-клеток: фагоцитоз. Большинство микроорганизмов выделяет вещества, вызывающие хемотаксис фагоцитов, и большинство этих клеток. Последующее уничтожение фагоцитированных микробов не требует дополнительной активации фагоцитов. Этот процесс способствует не зависящая от антител альтернативная активация комплемента.

присущие всем бактериям формилпептиды вызывают хемотаксис и, кроме того, непосредственно стимулируют фагоциты, вступая с ним в рецепторы.

Начальная стадия фагоцитоза — это связывание микроба на поверхности фагоцитарной клетки. Связыванию способствует активация комплекса и фиксации на поверхности микробной фагоцитоз. Аналогичным образом, если предварительно с микробной клеткой связываются антитела, в ее поглощении участвуют затем Fe-рецепторы фагоцитов, тем самым способствуя фагоцитозу.

Микроорганизмы, для которых характерна внутриклеточная локализация в организме-хозяине, обладают особыми возможностями поглощения осуществляются обычным путем, несмотря на то что вании бактерицидных механизмов не происходит.

**Роль компонентов микробных клеток в выделении цитокинов.** Другой независимый от T-клеток и антител механизм противомикробной защиты, весьма важный в начальной стадии инфекции, — это выделение цитокинов и хемокинов из макрофагов и прочих клеток. По-видимому, все инвазивные микробы содержат или выделяют молекулы, способные вызывать такой эффект. Среднее действие оказывает эндотоксин, или липополисахарид (ЛПС). Сложным образом ЛПС взаимодействует с мембранами эндотелиальных клеток, в результате чего происходит активация, соответствующих эффекторных функций этих клеток (рис. 41). Подобным образом может распознаваться и действовать и ряд других консервативных микробных структур.

Среди цитокинов, выделяемых макрофагами под действием микробных компонентов, особая роль принадлежит ФНО $\alpha$  и ИЛ-12. Высвобождаемые на ранней фазе иммунного ответа, эти и другие медиаторы выполняют три следующие фундаментальные функции (рис. 42):

служат сигналами для эндотелиальных клеток, начинающих результат их получения привлекать лейкоциты из кровотока; активуют фагоцитарные клетки в тканях, обеспечивая тем самым «врожденную резистентность» в тот период, когда еще только развивается T-клеточный иммунитет; служат одним из сигналов, предопределяющих тип T-клеточного иммунного ответа — Th1 или Th2.

Цитокины необходимы для привлечения лейкоцитов из кровотока. Последовательные стадии привлечения лейкоцитов из кровотока представлены на рис. 43. Вначале цитокины вызывают экспрессию на эндотелиальных клетках молекул адгезии, благодаря которой лейкоциты с легкостью прилипают к поверхности эндотелия и на-

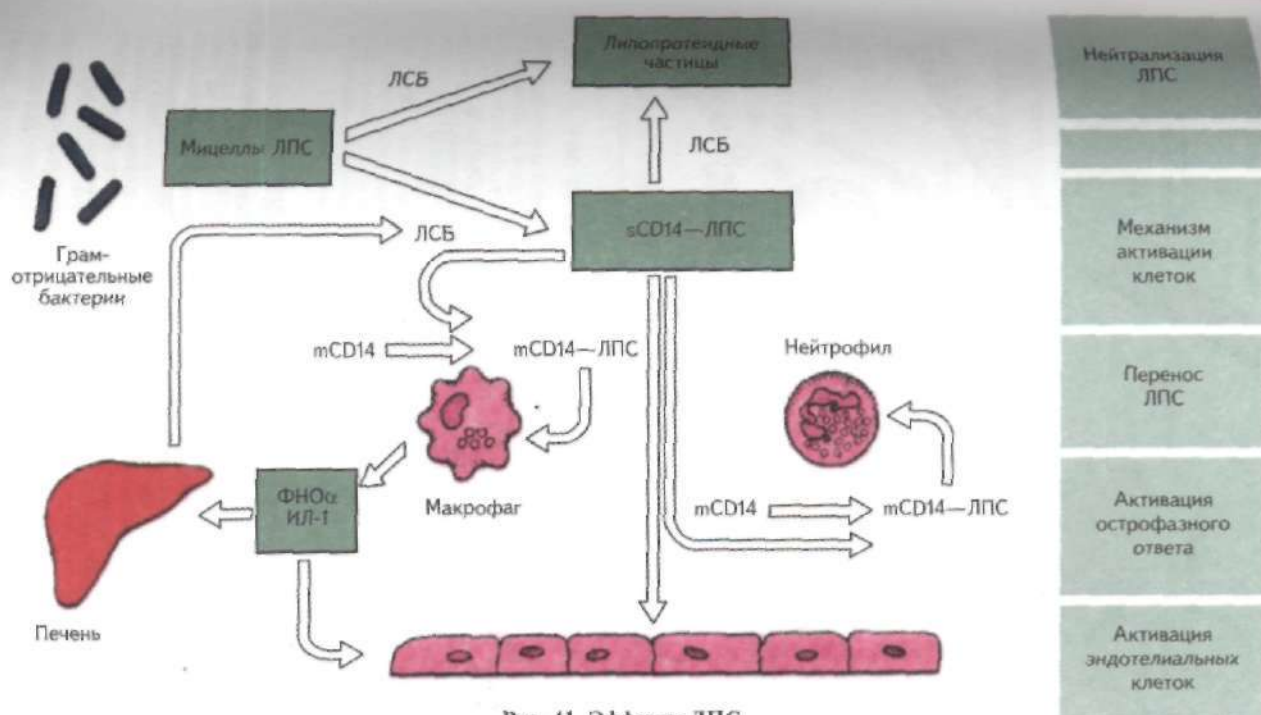


Рис. 41. Эффекты ЛПС.

Липополисахарид (ЛПС) — компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий — связывается в плазме крови с растворимым маркером CD14 (sCD14) и липопротеидными частицами. Катализатором этого взаимодействия служит липидпереносный белок, названный ЛПС-связывающим (ЛСБ). Связывание липопротеидной частицы приводит к нейтрализации ЛПС, связывание же sCD14 вызывает клеточную активацию, поскольку CD14 присутствует в организме также и в форме GPI-связанного мембранного белка (mCD14) нейтрофилов и макрофагов, и ЛПС из комплекса с растворимым CD14 переходит в комплексе с его мембраносвязанной формой. Комплекс mCD14-ЛПС, ассоциируя с другими мембраносвязанными факторами, передает внутрь клетки сигналы, повышающие экспрессию интегринов (молекул межклеточной адгезии) и выделение ФНО $\alpha$  и ИЛ-1. В свою очередь, эти цитокины активируют эндотелиальные клетки и вызывают острофазный ответ в печени. Один из продуктов острофазного ответа — это ЛСБ



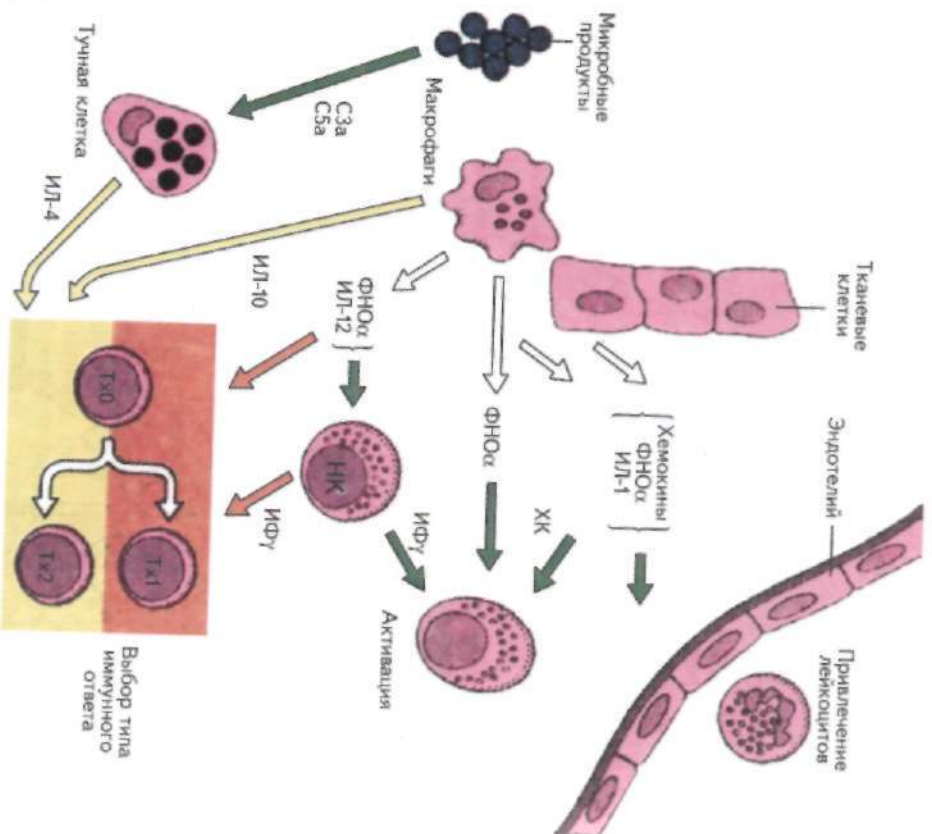


Рис. 42. Роль цитокинов на ранней стадии иммунного ответа.

Выделяемые макрофагами и тканевыми клетками ФНОα и ИЛ-12 имеют существенное значение в ранней фазе иммунного ответа. Они воздействуют на эндотелий кровеносных сосудов, мигрирующую по этому направлению циркулирующую лейкоцитарную субпопуляцию за этипы (ХК). Кроме того, ФНОα сам активирует макрофаги и нейтрофилы. Под действием ФНОα и ИЛ-12 НК-клетки выделяют ИФУ, который дополнительно усиливает бактерицидную активность фагоцитов. И, наконец, цитокины, выделяемые макрофагами и другими клетками, могут проиндуцировать еще до включения в иммунный ответ Т-лимфоцитов.

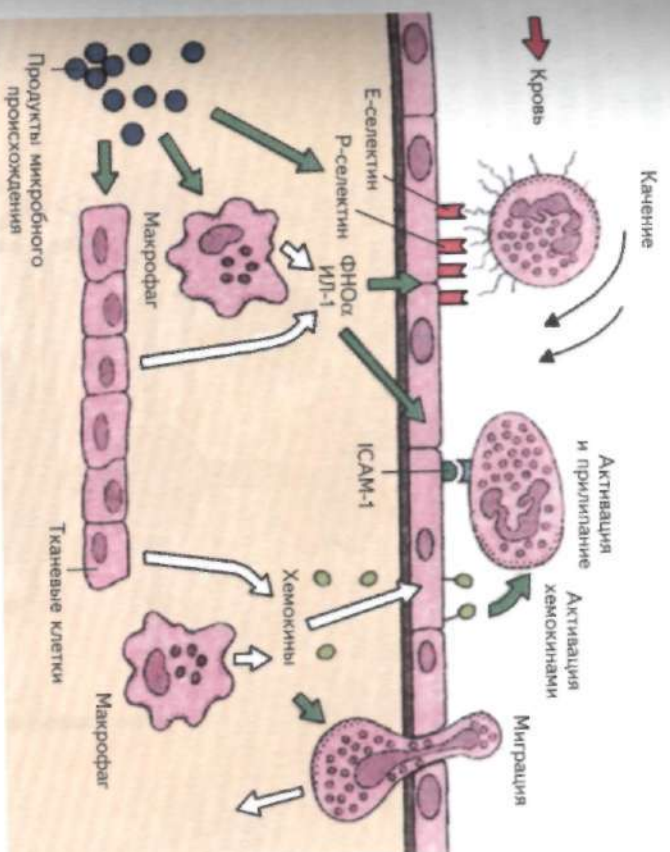


Рис. 43. Роль цитокинов в привлечении лейкоцитов из кровотока.

Под действием ФНОα, ИЛ-1 и липополисахарида (ЛПС) клетки эндотелия экспрессируют Е-селектин и Р-селектин, которые связываются с олигосахаридными цепями на поверхности циркулирующих лейкоцитов. В результате лейкоциты замедляют свое продвижение с током крови и начинают «катиться» по поверхности эндотелия. Цитокины повышают также экспрессию ICAM-1. Хемокины, в том числе MCP-1, RANTES и MIP-1α, выделяемые соответствующими макрофагами, тканевыми клетками и эндотелием, оседают на поверхности эндотелиоцитов и, активируя рецепторы, усиливают их взаимодействие со своими лигандами. Игитрины взаимодействуют с эндотелием, усиливая адгезию лейкоцитов к эндотелию. В итоге лейкоциты активно прикрепляются к эндотелию и мигрируют по градиенту хемотаксических медиаторов. Медиаторы прикрепления лейкоцитов из кровотока, а также набор экспрессируемых ими адгезивных молекул у каждой субпопуляции лейкоцитов имеют свои особенности.

Начинают катиться по нему в направлении кровотока. На следующей стадии происходит выделение тканевыми клетками хемокинов, которые связываются с эндотелиоцитами и активируют экспрессию ими игитринов, запуская тем самым механизм усиления лейкоцитарной адгезии. В результате лейкоциты прочно прилипают к эндотелию и прекращают движение. Последняя стадия привлечения лейкоцитов — это миграция их через эндотелий сосудов в ткань.

Существование перечисленных стадий привлечения лейкоцитов иллюстрирует два синдрома иммунодефицита. Оба синдрома недостаточности лейкоцитарной адгезии сопровождаются бактериальными инфекциями.

### 3.4.3. Т-ЗАВИСИМЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Выделяемые на самых ранних стадиях инфекции цитокины могут служить критерием, по которому легко определить тип последующего иммунного ответа. Это важный аспект клинической иммунологии, и в настоящее время он интенсивно разрабатывается. Такие разработки требуют четкого представления о возмож-

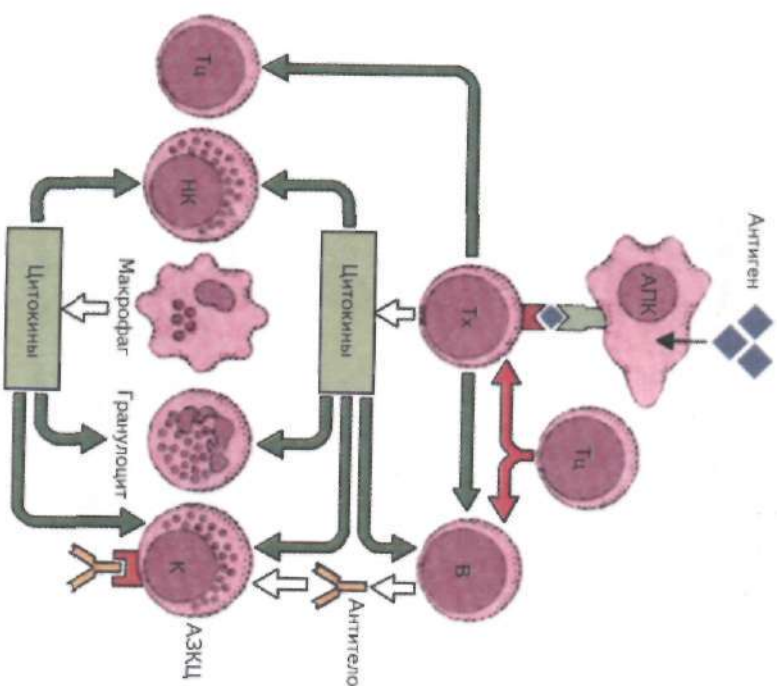


Рис. 44. Центральная роль Т-клеток в клеточном иммунитете.

Антигенпрезентирующие клетки (АПК) представляют процессорный антиген Т-хелперам (Тх) клеткам, которым принадлежит центральная роль в развитии иммунного ответа. Рис. 44 показывает, как Т-клетки «выбирают» и активируют тем самым выделяющие его в качестве медиатора иммунного ответа; кроме того, они могут оказывать помощь В-клеткам в образовании антител и активировать или подавлять функции других эффекторных клеток, к которым относятся цитотоксические Т-клетки (Тц), нормальные киллерные клетки (НК-клетки), макрофаги, гранулоциты и зависящие от антигена цитотоксические (К) клетки. Эффекты Тх-клеток во многих случаях опосредованы их собственными цитокинами, но непрямым воздействием Тх-клеток через другие клетки, в частности макрофаги и их цитокины, также имеет значение. Как Т-, так и В-клетки, в своей очереди под контролем «угнетательных» (Тс), или регуляторных, клеток

ных типах опосредованного клетками иммунного ответа и механизмах избирательной активации каждого из них. Понимая эти механизмы, можно регулировать иммунный ответ.

На рис. 44 схематически представлены основные функциональные взаимодействия между клетками, осуществляющими реакцию клеточного иммунитета, и центральная роль в этом Т-хелперов CD4<sup>+</sup>. (Следует отметить, что отдельные клетки могут выполнять несколько разных функций.) Тх-клетки различных субпопуляций, выделяя тот или иной набор цитокинов, по-разному влияют на многообразные виды клеточной кооперации. Активация Т-клеток при повторной встрече со специфическим антигеном может быть причиной гиперчувствительности замедленного типа с образованием гранулем или иммунопатологического повреждения тканей. Некоторые Т-клетки способны подавлять иммунный ответ и поэтому называются Т-супрессорами (Тс). Отдельные Тс выделяют регуляторный цитокин — трансформирующий фактор роста В (ТФРВ), и, вполне возможно, служат истинными «угнетателями» Т-клетками; остальные же могут быть просто регуляторными клетками, которые не подавляют, а перекрывают иммунный ответ с наблюдаемой в опыте формы на другую, не регулирующую экспериментатором.

### 3.4.4. РОЛЬ МАКРОФАГОВ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Макрофаги принимают участие в иммунном ответе на всех его этапах (рис. 45). Во-первых, как уже было отмечено, они осуществляют немедленную защитную реакцию до тех пор, пока не произойдет усиление иммунного ответа, регулируемое антигенспецифическими Т-клетками. Во-вторых, они вызывают активацию Т-клеток, осуществляя процессинг и презентацию им антигена. И, наконец, активированные, в свою очередь, Т-клетками, они выполняют важные функции в эффекторных механизмах клеточного иммунитета, вызывая воспаление и уничтожая микроорганизмы, а также опухолевые клетки (рис. 46).

Цитокины усиливают некоторые функции макрофагов. Циркулирующие моноциты способны уничтожать некоторые микроорганизмы. При культивировании *in vitro* они в значительной степени теряют эту активность, но под действием добавленных цитокинов, в частности ИФН, она восстанавливается и параллельно происходит активация дополнительных механизмов моноцитов. Та же «активация» цитокинами необходима макрофагам *in vivo* для разрушения многих внутриклеточных паразитов и некоторых опухолевых клеток. Классический эксперимент, демонстрирующий этот феномен, был проведен на животных, иммунизированных БЦЖ (BCG, сокращ. франц. bacillus Calmette—Guérin — «бацил-



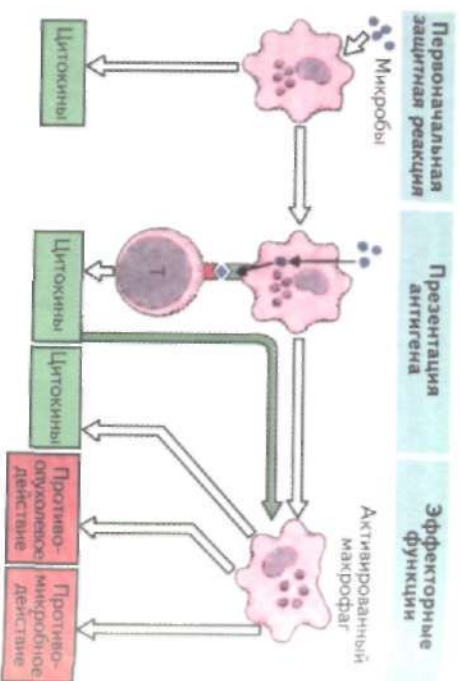


Рис. 45. Центральная роль макрофага в иммунной системе.

Макрофаги осуществляют защитную реакцию организма в ранней стадии отита на инфекцию, до поступления в действие специфических механизмов иммунитета, заключающихся в Т-клетках. Позже функция макрофагов сводится к переработке (проглатыванию) и представлению (презентации) антигена. Наконец, в эффекторной стадии иммунного отита активно участвуют антиген-Т-клетки, выделяют цитокины, активирующие макрофаги.

да» Кальметта—Герена; препарат авирулентных микобактерий — возбудителей туберкулеза бычьего типа.

Введение им очищенных белков туберкулина, т. е. смеси антигенов Муссбастейтш тубerculosis, стимулирующих Т-клетки, вызывает помимо стимуляции противотуберкулезного иммунитета резистентность и к другому патогенному микроорганизму — *Listeria monocytogenes*. При анализе этого эффекта выяснилось, что стимуляция макрофагов приводит к усилению их неспецифической коммунализации, но приводит к усилению их неспецифической бактерицидной активности. Как показали дальнейшие исследования, лимфоциты мышей, иммунизированные БЛЖ, при культивировании *in vitro* в присутствии соответствующего антигена (например, очищенного туберкулина) выделяют в среду цитокины, усиливающие способность макрофагов слерживать размножение или уничтожать как микобактерии, так и другие микробы.

Макрофаги весьма разнообразны по характеру присущих им свойств. Активность макрофагов — это сложный феномен. Активированные фагоцитирующие клетки приобретают повышенную способность уничтожать одни микроорганизмы, не затрагивая другие. Например, очищенный ИФУ стимулирует бактерицидную активность моноцитов человека в отношении *Legionella*, но при этом усиливает рост *Muscobastейтш тубerculosis*. Такой неоднородный характер эффекта обусловлен несколькими причинами:

множественностью эффекторных функций, выполняемых активированными макрофагами (см. рис. 46);

большим разнообразием моноцитов и макрофагов по характеру присущих им свойств; в зависимости от ткани и органа они различаются по экспрессии молекул МНС класса II и Fe-рецепторов, профилю выделяемых цитокинов и продукции пероксидазы. Тем не менее большинство исследователей считают, что все макрофаги принадлежат к одной клеточной линии, а наблюдаемые различия обусловлены последовательными стадиями их созревания и влиянием тканевого микроокружения;

кроме того, активация тех или иных функций может зависеть не только от природы макрофагов, но и от конкретного «спектра» цитокинов и других провоспалительных стимулов.

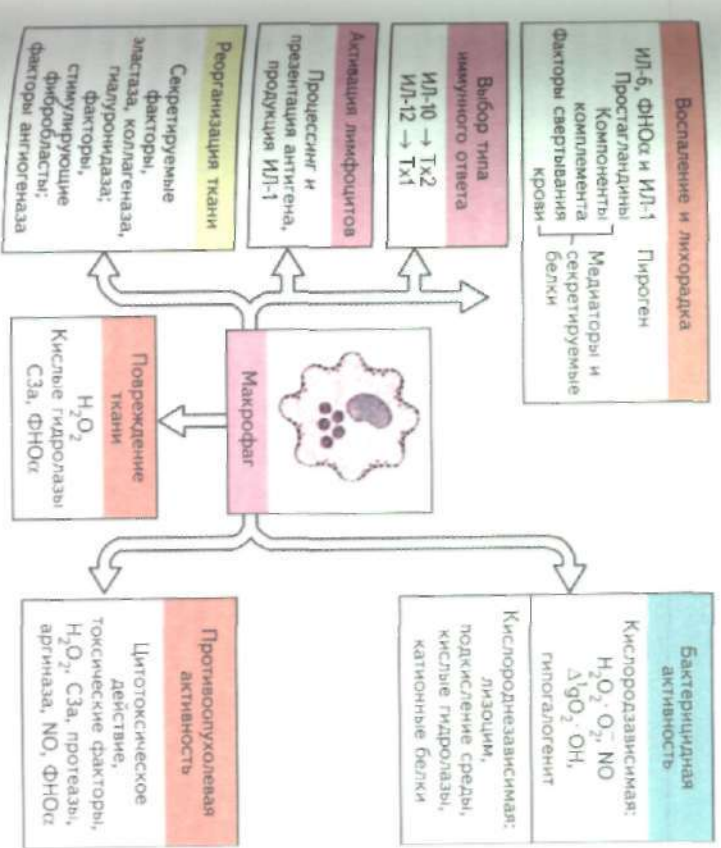


Рис. 46. Центральная роль макрофагов в иммунитете и воспалении.

Макрофаги и их продукты имеют существенное значение в индуктивной стадии воспаления, а также в реорганизации и поствоспалительной репарации тканей (левая часть схемы). Эффективные функции макрофагов перенесены в правой части схемы. В результате их осуществления может происходить повреждение тканей, как, например, при реактивной гиперчувствительности замедленного типа.

Предположительно активация макрофагов происходит в несколько этапов, под влиянием следующих один за другим стимулов, которыми могут служить цитокины, эндоксин, различные медиаторы и регуляторные факторы воспаления. На каждом этапе активации макрофаги способны к осуществлению различных эффекторных функций и обладают характерными особенностями морфологии и физиологии.

В некоторых случаях для стимуляции определенной функциональной активности макрофагов требуется несколько сигналов. Например, чтобы вызвать наибольшую продукцию оксида азота NO, необходимо стимулировать сначала ИФ $\gamma$ , а затем ФНО $\alpha$ . На макрофагах человека данный эффект получить гораздо труднее. В большинстве случаев для этого требуется серия стимулов, например, воздействие несколькими цитокинами с одномоментной перекрестной сшивкой Fc $\gamma$ RII (CD23). Макрофаги человека, выделенные из воспалительного очага, иногда экспрессируют индукцибельную синтазу оксида азота, но необходимый для его синтеза кофактор тетрагидриобиптерин они содержат в низкой концентрации. Поскольку оксид азота выполняет многочисленные сигнальные функции, не связанные с его токсическим действием, можно предполагать, что токсикантом служит не само это соединение азота, а преимущественно пероксинитриты, образующиеся в результате взаимодействия NO с продуктами восстановления кислорода. Обычно такое взаимодействие происходит только в очагах воспаления и при стимуляции фагоцитарной активности макрофагов.

Существует отрицательная регуляция эффекторных функций макрофагов. Как установлено, макрофаги могут быть не только активированы, но и дезактивированы. Подавление их функций способно вызывать простагландин E и отчасти (не по всем эффекторным механизмам), люкокортикоиды. Недавно из среды, в которой культивировались опухолевые клетки, был выделен и получен в очищенном виде фактор, дезактивирующий макрофаги (MDF, от англ. macrophage deactivating factor), который способен отменить вызванное ИФ $\gamma$  увеличение образования высокоактивных метаболитов кислорода и в некоторой степени NO. Таким же эффектом обладают ИЛ-4 и пептид, связанный с теном кальцитонина (CGRP, от англ. calcitonin-gene-related peptide), а также действие TFR $\beta$ -подобных пептидов.

### 3.4.5. ОБРАЗОВАНИЕ ГРАНУЛЕМ

Иногда клеточный иммунитет не обеспечивает устранения проникших в ткани микробов либо антигенный материал не элиминируется из-за того, что устойчив к ферментативному расщеп-

лению или просто относится к собственным компонентам организма. Если при этом Т-клетки продолжают накапливаться и выделять цитокины, образуется гранулема. Появление в тканях гранул характерно для инфекций, возбудители которых локализованы, хотя бы отчасти, внутриклеточно (например, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Leishmania spp.* и *Listeria tuberculosis*), либо по размерам крупнее макрофагов, либо проявляют тенденцию персистировать в тканях (например, яйца шистосом).

Как правило, гранулемы содержат клетки — производные макрофагов, в том числе эпителиоидные и гигантские многоядерные клетки; функции этих клеток еще полностью неизвестны. По морфологии эти компоненты гранулем скорее относятся к секреторным, а не к фагоцитарным клеткам, и появляются, по-видимому, в результате хронической стимуляции макрофагов цитокинами.

Входящие в состав гранулем Th-клетки CD4 $^{+}$  располагаются в центре этих образований, а Т-клетки CD8 $^{+}$  на их периферии. Это позволяет предполагать, что Т-клетки CD4 $^{+}$  выполняют решающую роль в привлечении и активации других лимфоцитов и макрофагов. При культивировании гранулематозной ткани *in vitro* обнаружено выделение ею в среду различных цитокинов. Для дальнейшего развития гранулем, по-видимому, требуются выделяемые Th-клетками цитокины и ФНО $\alpha$ , в случае мышиного шистосомоза для этого необходимы также цитокины, выделяемые Th2-клетками.

### 3.4.6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК ПРИ ГУМОРАЛЬНОМ ИММУННОМ ОТВЕТЕ

- Иммуноактивация, необходимая для синтеза антител, включает взаимодействие между Т-клетками и АПК и затем между этими примированными Т-клетками и В-клетками.

- Активация клеток осуществляется путем антигенспецифического взаимодействия с участком молекулы клеточной адгезии и цитокинов. Наиболее сильным стимулирующим сигналом служит молекула B7 (CD80 или CD86). В отсутствие соответствующей стимуляции распознавание антигена может привести к развитию клональной анергии.

- Пролиферация лимфоцитов происходит опосредованно, т. е. зависит от индукции рецепторов для факторов роста лимфоцитов, которую вызывает активация. Факторы роста лимфоцитов (наприм. ИЛ-2) синтезируются главным образом Т-клетками.

- Существуют два типа антигенов, вызывающих гуморальный иммунный ответ — Т-зависимые и Т-независимые. Т-зависимые антигены индуцируют вторичный иммунный ответ, характеризующийся образованием IgG и повышением аффинности антител.



- Для первичного иммунного ответа на T-зависимые антигены характерно образование низкоаффинных IgM-антител. При вторичном иммунном ответе продуцируется большее количество антител и происходит переключение изотипов с образованием IgG, IgA и IgE. Одновременно с этим возрастает аффинность антител.
- Переключение изотипа и повышение (созревание) аффинности антител происходят в центрах размножения внутри вторичных лимфоидных тканей.

Гуморальный ответ (образование антител) представляет собой кульминацию ряда клеточных и молекулярных взаимодействий, происходящих в строме последовательно:

Т-лимфоциты распознают антиген, представленный им антигенпрезентирующими клетками (АПК), и в результате переходят в активированное состояние;

Тх-клетки взаимодействуют с В-лимфоцитами, которые презентируют им антигенные фрагменты;

активированные В-лимфоциты пролиферируют и дифференцируются в антителообразующие клетки; начинается синтез антител, и от их класса зависит характер последующего иммунного ответа.

**Презентация антигена Т-клетками.** Процессинг антигена. В пионерских исследованиях Эйде и Носсела было установлено, что лишь очень небольшая доля молекул ( $< 1\%$ ) введенного антигена принимает участие в индукции иммунного ответа, а основное его количество быстро разрушается и выводится из организма. Эти данные позволяют предполагать, что презентация антигена является этапом, лимитирующим сорость иммунной реакции.

Проникающие в организм антигены подвергаются внутриклеточному процессингу — расщеплению на пептидные фрагменты, которые затем связываются с молекулами МНС класса I или II. Эти фрагменты определяют антигенспецифическую активацию Т-клеток: релпторы Т-клеток распознают аминокислотные последовательности этих фрагментов, связываемых в полости молекул МНС (в отличие от этого антигена распознают конформационные детерминанты).

Взаимодействие с антигенпрезентирующими клетками. Этот процесс крайне важен для активации Т-лимфоцитов. Взаимодействие между Т-лимфоцитами и клетками, составляющими гетерогенную группу так называемых антигенпрезентирующих клеток, — это наиболее детально изученный пример клеточной кооперации в иммунной системе. Взаимодействие Т-клеток и АПК после введения антигена открывает всю последовательность дальнейших событий и в основном определяет их конечный результат. Если активироваться достаточное число хелперных Т-клеток (Тх), то почти всегда происходит активация В-лимфоцитов или развитие реакции клеточного иммунитета; если же стимулирующих Тх-клеток отсутствует, может возникнуть та или иная форма имму-

мологической толерантности, при которой дальнейшие иммунные реакции не развиваются.

реакции не развиваются.

Типы АПК. Существуют различные типы АПК. Презентирующие антигены могут самые разнообразные клетки в зависимости от того, как и где происходит первичное взаимодействие антигена с иммунной системой. Наиболее эффективно начальную активацию пополнились Т-клеток CD4<sup>+</sup> обеспечивают интердигитально дендритные клетки (ИДК), присутствующие в изобилии в тканевых лимфатических узлов и селезенки. Для ИДК T-клеточных зонах уровень экспрессии МНС-антигенов класса II, которые взаимодействуют с Т-клеточным рецептором (ТкР) и молекулой CD4 на поверхности Тх CD4<sup>+</sup>. Однако макрофаги и В-клетки также могут экспрессировать МНС-антигены класса II, поэтому объяснить большую эффективность ИДК в презентации

Как предполагается, интердигитальные клетки — это главный тип антигенпрезентирующих клеток, действующих при первичном иммунном ответе, поскольку они индуцируют пролиферацию и эффективные АПК всех других типов.

Т-клеток эффективнее для всех других клеток. Именно клеточная пролиферация служит ключевым этапом в развитии иммунного ответа, обеспечивая увеличение числа эффекторных Т-клеток, однако это лишь одна сторона эффективности активации Т-лимфоцитов. Способность индуцировать и пролиферацию, и хелперную функцию Т-клеток обладают также дендротические клетки (наиболее изученные АПК у человека).

Также моноциты крови (находясь в циркуляции) и В-лимфоциты — они способны связывать, интернализировать и расщеплять специфический антиген на пептиды, которые образуют комплекс с молекулами МНС класса II. При очень низкой концентрации антигена В-лимфоциты с высокоаффинными антигенными рецепторами (IgM или IgD) служат наиболее эффективными АПК, поскольку другие типы просто не могут захватить достаточно для презентации количества антигенного материала. При вторичном иммунном ответе (протекающем с участием большого числа антигенспецифических В-клеток) В-клетки могут стать главным типом АПК. Свойства и функции АПК представлены в таблице 2.

## 2. Антирепрезентирующие клетки

Тип клеток	Фаллоцитоз	Тип клеток	Локалилизация	Экспрессия маркера МНС класса II
Фаллоциты (моноциты/макрофаги)	+	Моноциты	Кровь	-
				-

• Для первичного иммунного ответа на Т-зависимые антигены характерно образование низкоаффинных IgM-антител. При вторичном иммунном ответе продуцируется большее количество антител и происходит переключение изотипов с образованным IgG, IgA и IgE. Одновременно с этим возрастает аффинность антител.

• Переключение изотипа и повышение (созревание) аффинности антител происходит в центрах размножения внутри вторичных лимфоидных тканей.

Гуморальный иммунный ответ (образование антител) представляет собой кульминацию ряда клеточных и молекулярных взаимодействий, происходящих в строеной последовательности:

Т-лимфоциты распознают антиген, представленный им антигенпрезентирующими клетками (АПК), и в результате переходят в активированное состояние;

Тх-клетки взаимодействуют с В-лимфоцитами, которые презентируют им антигенные фрагменты;

активированные В-лимфоциты пролиферируют и дифференцируются в антигенообразующие клетки;

начинается синтез антител, и от их класса зависит характер последующего иммунного ответа.

**Презентация антигена Т-клетками.** Процессинг антигена. В пионерских исследованиях Эйде и Носселла было установлено, что лишь очень небольшая доля молекул (< 1 %) введенного антигена принимает участие в индукции иммунного ответа, а основное его количество быстро разрушается и выводится из организма. Эти данные позволяют предполагать, что презентация антигена является этапом, лимитирующим скорость иммунной реакции.

Проникшие в организм антигены подвергаются внутриклеточному процессингу — расщеплению на пептидные фрагменты, которые затем связываются с молекулами МНС класса I или II. Эти фрагменты определяют антигенспецифическую активацию Т-клеток: рецепторы Т-клеток распознают аминокислотные последовательности этих фрагментов, связываемых в полости молекул МНС (в отличие от этого антигена распознают конформационные детерминанты).

Взаимодействие с антигенпрезентирующими и клетками. Взаимодействие между Т-лимфоцитами и клетками, составляющими гетерогенную группу так называемых антигенпрезентирующих клеток, — это наиболее детально изученный пример клеточной кооперации в иммунной системе. Взаимодействие Т-клеток и АПК после введения антигена открывает всю последовательность дальнейших событий и в основном определяет их конечный результат: если активируется достаточное число хелперных Т-клеток (Тх CD4<sup>+</sup>, то почти всегда происходит активация В-лимфоцитов или развитие реакций клеточного иммунитета; если же стимуляция Тх-клеток отсутствует, может возникнуть та или иная форма имму-

нологической толерантности, при которой дальнейшие иммунные реакции не развиваются.

**Типы АПК.** Существуют различные типы АПК. Презентировать антигены могут самые разнообразные клетки в зависимости от того, как и где происходит первичное взаимодействие антигена с иммунной системой. Наиболее эффективно начальную активацию покровных Т-клеток CD4<sup>+</sup> обеспечивают начальную активацию дендритных клеток (ИДК), присутствующие в изобилии в татные дендритные зоны лимфатических узлов и селезенки. Для ИДК Т-клеточных зон уровень экспрессии МНС-антигенов класса II, которые взаимодействуют с Т-клеточным рецептором (ТхR) и В-молекулой CD4 на поверхности Тх CD4<sup>+</sup>. Однако макрофаги и В-клетки также могут экспрессировать МНС-антигены класса II, поэтому объяснить большую эффективность ИДК в презентации антигенов только этим свойством невозможно.

Как предполагается, интердигитальные клетки — это главный тип антигенпрезентирующих клеток, действующих при первичном иммунном ответе, поскольку они индуцируют пролиферацию Т-клеток эффективнее АПК всех других типов.

Именно клеточная пролиферация служит ключевым этапом в развитии иммунного ответа, обеспечивая увеличение числа антигенспецифических Т-клеток, однако это лишь одна сторона эффективности активации Т-лимфоцитов. Способностью индуцировать и пролиферацию, и хелперную функцию Т-клеток обладают также моноциты крови (наиболее изученные АПК у человека).

В качестве АПК могут действовать и В-лимфоциты — они способны связывать, интернализировать и расщеплять специфический антиген на пептиды, которые образуют комплекс с молекулами МНС класса II. При очень низкой концентрации антигена В-лимфоциты с высокоаффинными антигенными рецепторами (IgM или IgD) служат наиболее эффективными АПК, поскольку АПК других типов просто не могут захватить достаточное для презентации количество антигенного материала. При вторичном иммунном ответе (протекающем с участием большого числа антигенспецифических В-клеток) В-клетки могут стать главным типом АПК. Свойства и функции АПК представлены в таблице 2.

2. Антигенпрезентирующие клетки

Тип клеток	Фенотип	Тип клеток	Локализация	Экспрессия молекул МНС класса II
Фенотипы (моноциты/макрофаги)	+	Моноциты	Кровь	—
	+	Макрофаги	Ткань	—
	+	Макрофаги красной зоны	Селезенка и лимфатические узлы	(-) → + + +
	+	Клетки Купфера	Печень	—



Тип клеток	Филлотоз	Тип клеток	Локализация	Экспрессия молекул МНС класса II
Нефалогитарные конститутивные АПК	+	Клетки микроглии	Головной мозг	—
	—	Клетки Лангерганса	Кожа	++
	—	Интерстициальные дендритные клетки (ИДК)	Лимфоидная ткань	Конститутивная
	—	Фолликулярные дендритные клетки	То же	—
Лимфоциты	—	В-клетки и Т-клетки	Лимфоидные ткани и фазы иммунной реакции	— + + +
Факультативные АПК	+	Астроциты	Головной мозг	Индукцибельная
	+	Фолликулярные клетки	Шитовидная железа	Индукцибельная
	—	Эндотелий	Сосуды и лимфоидная ткань	— + + +
	—	Фибробласты	Соединительная ткань	—

Примечание. Многие АПК не способны фагоцитировать антиген, однако могут поглощать его другими способами, например путем пиноцитоза. Эндотелиальные клетки, которые обычно не рассматриваются как АПК, под действием ИФУ экспрессируют молекулы класса II и могут презентировать антигены, как и некоторые эпителиальные клетки.

4+ — клетки обладают антипрезентирующими свойствами и способны экспрессировать молекулы МНС класса II.

— — клетки такими свойствами не обладают.

Презентацию антигена Т-клеткам обеспечивает взаимодействие множества молекул клеточной поверхности. Т-клеточный рецептор (ТсР) — димер, состоящий из  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи, — распознает специфический пептид, находящийся в пептидсвязывающей полости молекулы МНС. Это связывание является определяющим для иммунологической специфичности, так как пептид, ассоциированный с МНС-молекулой, расположенного гаплогена, образует уникальную структуру, распознаваемую ТсР. Однако в презентации участвуют и другие молекулы. Доказательство этого получено в экспериментах с трансфекцией комплементарной ДНК (кДНК), кодирующей молекулы МНС человека, в мышечные фибробласты. Клетки мыши, экспрессируя молекулы МНС человека, приобрели способность функционировать как АПК человека, но менее эффективно по сравнению с клетками, которые экспрессировали также и другие связанные с презентацией молекулы. Одной из таких молекул служит молекула I межклеточной адгезии (ICAM-1, от англ.

intercellular adhesion molecule-1), взаимодействующая с функциональным антигеном Т лимфоцитов (LFA-1, от англ. lymphocyte functional antigen-1), имеющимся у всех клеток иммунной системы.

### 3.5. ВОСПАЛЕНИЕ

Воспаление — это реакция организма на внедрение инфильтрующего агента, введение антигена или физическое повреждение тканей. Помимо усиления клеточной миграции, описанные выше, воспаление вызывает приток различных растворимых молекул из плазмы крови. В противоположность лейкоцитам, которые мигрируют через эндотелий венул, молекулы плазмы крови попадают в воспалительный экссудат главным образом из капилляров, где кровяное давление выше. Этот процесс обеспечивается двумя механизмами: усилением кровенаполнения капилляров в области воспаления и увеличением проницаемости капилляров.

Проницаемость капилляров повышается вследствие втягивания (ретракции) клеток эндотелия и, возможно, также усиления транспорта везикул сквозь эндотелий. Это обеспечивает поступление в очаг воспаления более крупных молекул, чем те, которые обычно могут проникать сквозь эндотелий. Таким образом в очаг воспаления поступают антигены, компоненты компонента и другие ферментные системы плазмы крови.

Клетки иммунной системы в норме рассеяны по всем тканям тела, но если возникает очаг инфекции, эти клетки и их продукты выделяются концентрируются именно в нем. Обеспечивающий это процесс называют *воспалительной реакцией*. Для воспаления характерны три основных проявления:

увеличивается кровоснабжение инфицированной области; благодаря сокращению эпителиальных клеток возрастает проницаемость кровеносных капилляров; за счет этого из капилляров выходит крупные молекулы и таким образом растворимые медиаторы иммунитета достигают очага инфекции.

лейкоциты мигрируют из венул в окружающие ткани. В самом раннем периоде воспаления в очаге инфекции больше всего нейтрофилов, но позднее к нему мигрируют также моноциты и лимфоциты.

**Хемотаксис и миграция клеток.** Ключевой момент миграции клеток — это их прилипание (распластывание, адгезия) к сосудистой стенке воспаленных тканей в результате взаимодействия между молекулами на поверхности лейкоцитов и активированных эндотелиальных клеток. Проникнув в ткани, клетки мигрируют в направлении очага инфекции под влиянием химического притяжения, называемого хемотаксисом.



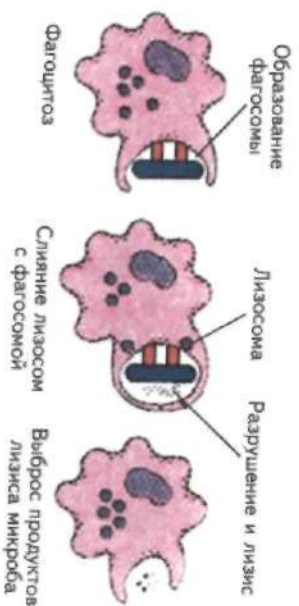


Рис. 47. Фагоцитоз.

Фагоциты поступают в очаг воспаления благодаря хемотаксису. Затем их поверхностные неспецифические рецепторы связываются с микробами, либо, если микробная поверхность опсонизирована фрагментами третьего компонента комплекса (С<sub>3</sub>б и/или антигенами), связываясь с ними. Затем фагоциты активизируются, они окружают инфекционный агент перекисными, связывая в фагосоме; при этом происходит образование бактерицидных метаболитов: пероксида, лизоцима. Как только микроб поступает внутрь клетки, лизоцим сливается с фагосомой, образуя фаголизосому, в которой инфекционный агент уничтожается. Остатки микроба могут быть выделены клеткой наружу.

Фагоцитам свойственно активно мигрировать по градиенту концентрации определенных (хемотаксических) соединений. Особенно сильный хемотаксис вызывается фрагментом одного из компонентов комплекса, С<sub>5</sub>а (см. рис. 13). Привлекающего нейтрофилов и моноцитов. При нанесении на кожу *in vivo* препарата очищенного С<sub>5</sub>а можно вскоре наблюдать прилипающие нейтрофилы к эндотелию расположенных вблизи венул. Проскальзывая затем между эндотелиальными клетками, нейтрофилы проникают через базальную мембрану венул в ткани. Связавшись с опсонизированным микробом, фагоцитарная клетка поглощает его (рис. 47).

Воспаление регулируется хемокинами, ферментными системами плазмы, питокинами, а также продуктами метаболизма тучных клеток, тромбоцитов и лейкоцитов. Развитие воспалительного процесса происходит при участии: 1) хемокинов, 2) продуктов активации ферментных систем плазмы и 3) vasoактивных медиаторов, выделяемых лейкоцитами (тучная клетка, базофил — гистамин; базофилы, нейтрофилы, макрофаги — фактор активации тромбоцитов; моноциты и лимфоциты — ИЛ-8). Воспалительные реакции разного типа регулируются различными медиаторами. Немедленный ответ зависит от быстродействующих vasoактивных аминов и продуктов кининовой системы. Позднее привлечение и активация лейкоцитов происходит под действием вновь синтезированных медиаторов, таких как лейкотриены.

Достигая очага инфекции или воспаления, лейкоциты ранней волны миграции выделяют медиаторы, которые обеспечивают

дальнейшее накопление и активацию клеток. Однако роль главного регулятора воспалительных реакций, инициированных иммунной системой, как и иммунного ответа вообще, принадлежит муноному антигену. Поэтому очаг хронической инфекции или аутоиммунных реакций (где антиген не удается устранить окончательно) существенно отличается по клеточному составу инфильтрата от очагов воспаления, быстро освобождаемых от антигена.

**Ферментные системы плазмы.** Существенная роль в гемостазе и регуляции воспаления принадлежит четырем главным ферментным системам плазмы крови: системе свертывания, системе фибринолиза (плазминовая система), системе кининов и системе комплемента. Система комплемента опосредует многообразные взаимодействия между иммунным ответом и воспалением. К кининовой системе относятся медиаторы брадикинина и лизина (калликрина). Брадикинин — это функционально весьма сильный vasoактивный нонапептид, вызывающий увеличение просвета венул и сосудистой проницаемости, а также сокращение гладких мышц. Он образуется в результате активации фактора Ха-тема (XII), относящегося к системе свертывания крови, тогда как для образования калликрина необходимы активация плазминовой системы или участие ферментов, выделяемых поврежденными тканями.

**Воспалительные клетки воспаления.** К ним относятся тучные клетки, базофилы и тромбоциты; все эти клетки служат важным источником vasoактивных медиаторов — гистамина и 5-гидроксириптаммина (серотонина), вызывающих вазодилатацию и увеличение проницаемости сосудов. Многие из провоспалительных эффектов С<sub>3</sub>а и С<sub>5</sub>а обусловлены их способностью вызывать высвобождение содержимого гранул из тучных клеток. Об этом свидетельствует факт подавления данных эффектов антигистаминными препаратами. Кроме того, тучные клетки и базофилы могут стать непосредственной причиной воспаления, вызванного специфическим иммунным ответом, так как IgE сенситизирует их для дегрануляции при встрече с антигеном. Взаимодействие между механизмами приобретенного иммунитета и воспаления схематично представлено на рис. 48. Тучные клетки служат также важным источником медленнодействующих медиаторов воспаления, в том числе лейкотриенов, простагландинов и тромбоксанов. Тромбоциты, как и тучные клетки, могут быть активированы продуктами иммунной системы — иммунными комплексами или факторами активации тромбоцитов, выделяемыми нейтрофилами, базофилами и макрофагами. Предполагается, что этот механизм важен в реакциях гиперчувствительности II и III типов.

**Питокины.** Подобно другим медиаторам питокины служат для межклеточной сигнализации при развитии воспалительного процесса. На его начальных стадиях местные тканевые клетки могут выделять такие питокины, как ИЛ-1 и ИЛ-6. Как только в очаге



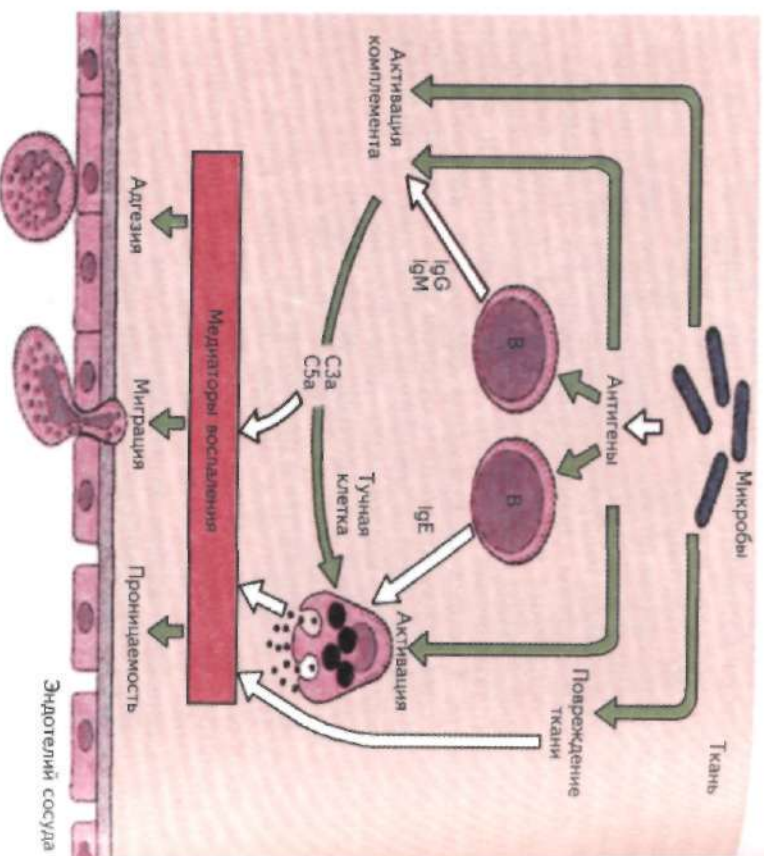


Рис. 48. Иммуный ответ на острое воспаление.

Приобретенный иммунитет действует на воспалительные процессы через систему комплемента. Антигены (например, микробного происхождения) стимулируют В-клетки для продукции антител, в том числе IgE, связывающихся с тучными клетками, а также IgG и IgM, активирующими комплемент. Кроме того, комплемент может активироваться и без участия антител (в частности, микробами) по альтернативному пути. Сенсибилизированные антителами тучные клетки, встретившись с антигеном, выделяют из своих гранул медиаторы и эйкозаноиды (продукты метаболизма арахидоновой кислоты, такие как простагландины и лейкотриены). Вместе с комплементом (который непосредственно своими субкомпонентами C3a и C5a может вызывать деградацию тучных клеток) эти медиаторы индуцируют опосредованный омик воспалительный, способствуя накоплению в нем лейкоцитов и продуктов активации ферментных систем плазмы.

Воспаления появляются лимфоциты и мононуклеарные фагоциты, они могут, активируясь под действием антигена, выделять свои собственные цитокины (ИЛ-1, ФНО, ИЛ-4, ИФН $\gamma$ ), которые, воздействуя на эндотелий местных сосудов, дополнительно усиливают клеточную миграцию. Другие цитокины, например ИЛ-8, могут оказывать хемотаксическое или активирующее действие на прибывающие клетки.

### 3.6. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ — ТИПЫ I, II, III И IV

IgE связывается специфическими рецепторами (FcεR1) тучных клеток. При взаимодействии связанного IgE с аллергеном тучные клетки выделяют медиаторы (аутокоиды, гистамины), которые и вызывают клинические симптомы аллергии.

- Типичные примеры аллергических реакций — поллиноз, астма, атопическая экзема, лекарственная аллергия и анафилаксия.
- Анализ консордантности среди близнецов показывает, что продукция IgE обусловлена генетической предрасположенностью к иммунному ответу на аллерген с участием Тх2-клеток и ИЛ-4.
- Факторы окружающей среды, такие, как аллергенный фон, вирусные инфекции и загрязнение, модифицируют и усиливают IgE-ответ и клинические симптомы.
- В процессе эволюции антитела класса IgE появились, возможно, для защиты организма от гельминтов. Продукцию IgE в ответ на аллергены с последующим развитием аллергической реакции можно рассматривать как нежелательный побочный эффект.

Гиперчувствительностью называют чрезмерное или неадекватное проявление реакций приобретенного иммунитета. В основе гиперчувствительности лежит полезный в норме для организма иммунный ответ, но в данном случае действующий неадекватно, иногда с развитием воспаления и повреждением тканей. Реакции гиперчувствительности могут провоцироваться многими антигенами, и причины их различны. Гиперчувствительность проявляется не при первом, а, как правило, лишь при последующих контактах с антигеном. Р. Кумбсом и другими исследователями выделены четыре типа гиперчувствительности (типы I, II, III и IV), но на практике они необязательно встречаются порознь. Реакции первых трех типов опосредуются антителами; реакции четвертого — преимущественно Т-клетками и макрофагами.

Гиперчувствительность I (немедленного) типа развивается в том случае, когда IgE-ответ направлен против в норме безвредных антигенов внешней среды, таких как цветочная пыльца, домашняя пыль или слюнные железы эпителия (перхоть) животных. Сенсибилизированные IgE тучные клетки выделяют при этом биологически активные медиаторы, которые вызывают острую воспалительную реакцию с симптомами астмы или ринита. Гиперчувствительность II типа, называемая также антигенозависимой цитотоксической, возникает, когда антитела, обычно класса IgG, связываются на поверхности клеток с ауто- или чужеродным антигеном, вызывая в результате фаллолитоз, активацию киллерных клеток или комплемент-опосредованный лизис. Гиперчувствительность III типа развивается при образовании большого количества иммунных комплексов или при нарушении их элиминации ретикулоэндотелиальной системой; обе эти причины вызывают реакции, сходные с сыпороточной бо-



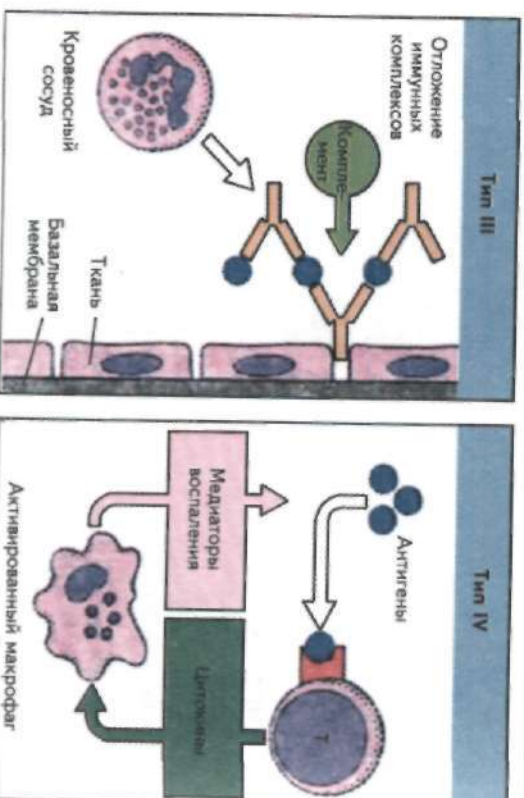
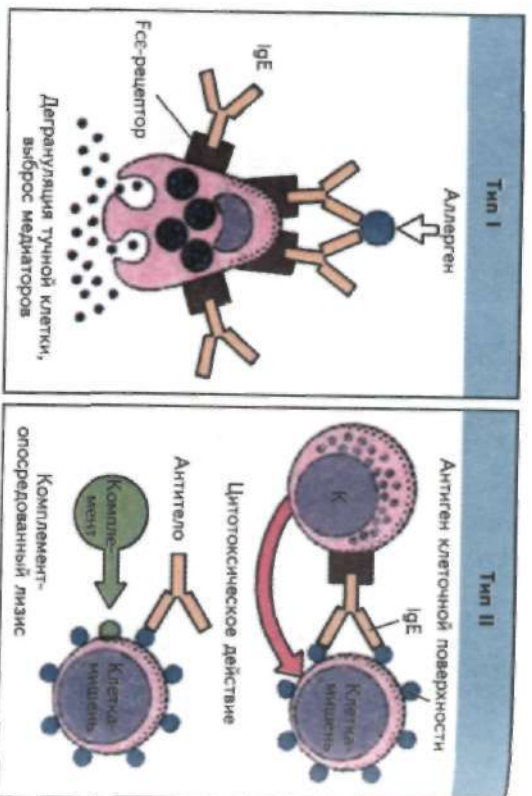


Рис. 49. Четыре типа реакций гиперчувствительности.

Существует четыре типа реакций гиперчувствительности. Тип I характеризуется связыванием IgE с Fcε-рецепторами тучных клеток. При контакте с аллергеном происходит перекрестное связывание IgE: оно вызывает дегрануляцию тучных клеток и высвобождение ими медиаторов аллергической реакции. При гиперчувствительности II типа вырабатываются антитела к антигенам поверхности собственных клеток организма (клеток-мишеней) или к чужеродному антигену, например эритроцитам при переливании крови. Связывание таких антител на клетках-мишенях может вызвать цитотоксический эффект K-клеток или комплексообразования, лизис клеток-мишеней. При этом происходит активация иммунных комплексов в тканях иммунных комплексов, вызывая локальное повреждение тканей и воспаление. Гиперчувствительность IV типа связана с тем, что сенсибилизированные антигеном T-клетки при повторной встрече с тем же антигеном выделяют цитокины.

лезью. Гиперчувствительность IV, или замедленного, типа (ГЗТ) наиболее резко проявляется в тех случаях, когда макрофаги поглощают чужеродный материал (например, возбудителей туберкулеза), но не способны его элиминировать. При этом происходит стимуляция синтеза T-клетками цитокинов, вызывающих различные воспалительные реакции. Другими проявлениями реакций ГЗТ являются отторжение трансплантата и аллергический контактный дерматит. Перечисленные четыре типа реакций гиперчувствительности проиллюстрированы на рис. 49.

### 3.6.1. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ I (НЕМЕДЛЕННОГО) ТИПА

Гиперчувствительность I типа характеризуется аллергической реакцией, развивающейся сразу же после контакта с антигеном, который в данном случае называют аллергеном. Термин «аллергия», означающий измененную реактивность организма-хозяина при его повторных встречах с «агентами», впервые был предложен в 1906 г. К. фон Пирке (без разделения развивающихся при этом иммунологических реакций по типам). Синонимом для обозначения гиперчувствительности I типа термин «аллергия» стал лишь в последние годы.

**Атопия** — общий термин, объединяющий астму, экзему, поллиноз (сенную лихорадку) и пищевую аллергию. Термин «атопия» впервые был использован Кока и Р. Куком в 1923 г. для описания клинических проявлений гиперчувствительности I типа, включая астму, экзему, сенную лихорадку, крапивницу и пищевую аллергию.

Отмечается сходство анафилаксии у животных, описанной П. Порье и Ш. Рише (Portier, Richet) в 1902 г., с сенной лихорадкой и астмой у человека. Однако у животных введение чужеродных белков или токсинов приводит к образованию преципитирующих антител в 90% случаев, тогда как у человека после воздействия приантител в 10...20% случаев. Другое существенное различие заключается в том, что аллергия у человека, но не анафилаксия у животных (насколько известно) тесно связана с наследственностью. Таким образом, исходные механизмы аллергических реакций у животных и атопии у человека, по-видимому, различны.

Аллергия опосредуется иммуноглобулинами класса IgE. Механизм аллергической реакции первыми описали Прауснитц и Кюстнер в 1921 г. Эти исследователи провели следующий эксперимент: сыровотку крови Кюстнера (он страдал аллергией к рыбе) ввели подкожно Прауснитцу. При последующем введении рыбьего антигена в тот же участок кожи у Прауснитца сразу же появилась гиперемия с волдырями. [Это напоминает ПКА-тест (пассивная кожная анафилаксия), применяемый для оценки продукции







к внутриклеточным компонентам, но они обычно непатогенны, хотя могут иметь диагностическое значение. Трансфузионные реакции на эритроциты вызываются антигенами к антигенам групп крови; образование таких антигел может происходить независимо или в результате индукции предшествующим контактом с несоемственной тканью или кровью при трансплантации, переливании крови или беременности.

Антители повреждают клетки и ткани вследствие активации комплемента, а также связывания и активации эффекторных клеток, несущих Fc-рецепторы. Гемолитическая болезнь новорожденных развивается в тех случаях, когда материнские антитела к групповым антигенам крови плода проходят через плаценту и разрушают его эритроциты. Повреждение тканей могут вызывать антитела к базальным мембранам, молекулам межклеточной адгезии или рецепторам. Характер патологии зависит от молекул и тканей-мишеней.

Антитела IgG и IgM, связываясь с определенными клетками или тканями, вызывают развитие реакций гиперчувствительности II типа. Локализация возникающих повреждений ограничена, так как образуются клетками или тканями, экспонируемыми соответствующими антигенами. Патогенность, как правило, характерна для внутриклеточным антигенам обычно непатогенны. В отличие от этого в реакциях III типа участвуют антитела к растворимым антигенам сыворотки, вызывающие образование в крови комплексов антиген-антитело. Повреждения в данном случае связаны с неспецифическим отложением таких комплексов в тех или иных тканях и/или органах.

При гиперчувствительности II типа повреждение клеток-мишеней обусловлено взаимодействием антигел к антигенам клеточной поверхности или тканей с комплекментом и различными эффекторными клетками.

Прикрепившись к поверхности клеток или тканей антитела могут связывать и активировать компонент C1 комплемента, вызывая следующие эффекты.

Фрагменты комплемента (C3a и C5a), образуясь при его активации, привлекают к данному участку макрофаги и полиморфноядерные клетки, а также стимулируют продукцию тучными клетками и базофилами молекул, привлекающих и активирующих другие эффекторные клетки. Активация комплемента по классическому пути и действие механизма усиления приводят к отложению C3b, C3bi и C3d на мембране клеток-мишеней. Активация комплемента по классическому пути на ее конечной стадии приводит к образованию лизирующего мембрану комплекса (C5b-9), который встраивается в мембрану клетки-мишени.

Эффекторные клетки — в данном случае макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и НК- (киллерные) клетки — взаимодействуют

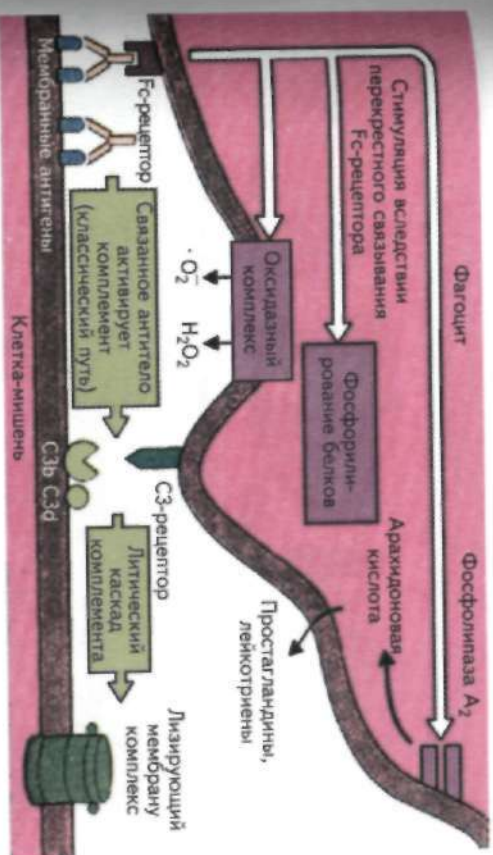


Рис. 51. Механизм цитотоксических реакций при гиперчувствительности II типа.

Антитела, связываясь с мембранными антигенами клеток-мишеней, опсонизируют их, способствуя фагоцитозу. Перекрестное связывание антигел с Fc-рецепторами на поверхности фагоцитов активирует мембранный окислительный комплекс этих клеток, приводя к выделению активных кислородных радикалов; одновременно усиливается и фосфорилирование белков, т. е. происходит активация эффекторных клеток. Под действием фосфолипазы A<sub>2</sub> из мембранных фосфолипидов высвобождается арахидоновая кислота. Иммунные комплексы индуцируют отложение фрагмента C3b комплемента, также способного взаимодействовать с рецепторами фагоцитов. Активация лизиса комплемента приводит к сборке лизирующего мембрану комплекса (C5b-9) из компонентов комплемента C3b-C9.

посредством своих Fc-рецепторов с фиксированными на клетках антигенами или через свои C3-рецепторы с мембраносвязанными C3b, C3bi и C3d. Прочно связанные с клетками-мишенями и полнотой активированные эффекторные клетки могут вызывать значительные повреждения.

Эффекторные клетки вызывают характерные для гиперчувствительности II типа повреждения клеток собственного организма посредством тех же механизмов, какими они действуют на инфекционные агенты (рис. 51). Так, большинство патогенных микробов (если они не резистентны к воздействию фагоцитов) уничтожаются внутри фаголизосом в результате совместного действия высокоактивных метаболитов кислорода и азота, радикалов, ионов, ферментов, изменения pH и влияния других факторов, обеспечивающих лизис. Если объект слишком крупный для фагоцитоза, эффекторные клетки выделяют содержимое своих гранул и лизосом в направлении сенсibilизированной мишени (экзоцитоз) (рис. 52). В определенных случаях, например при эозинофильной реакции на инвазию шистосом, выброс содержимого гранул обеспечивает защиту; когда же мишенью оказываются сен-



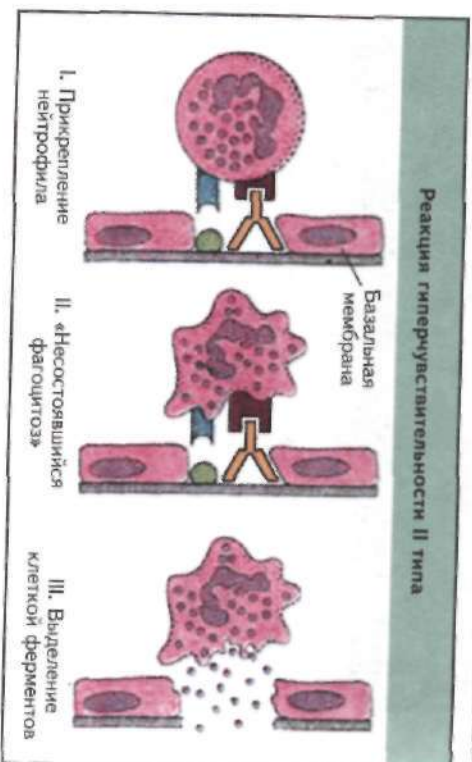
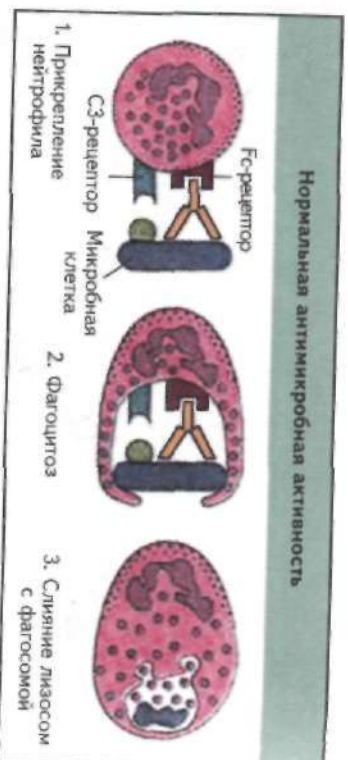


Рис. 52. Механизмы повреждений.

Повреждающее действие нейтрофилов на собственные ткани — это отражение нормальной антибактериальной функции этих клеток. 1. Нейтрофилы взаимодействуют с микроорганизмом через свои Fc- и C3-рецепторы. 2. Затем микрофилу клетку поглощает фагоцит, внутри которого она разрушается по мере слияния лизосом с фagosомой с образованием фagosосомы (3). В реакциях гиперчувствительности II типа отдельные поврежденные антигенами клетки хозяина также могут подвергаться фагоцитозу, но при крупных размерах мишеней, если это, например, базальная мембрана (1), нейтрофилы неспособны фагоцитировать ее (2) и выделяют содержащее лизосомы наружу, повреждая базальную мембрану клетки (3).

Поврежденные антигенами клетки хозяина, эта реакция приводит к повреждению собственных тканей.

Антигены вызывают реакцию гиперчувствительности II типа — это перекрестного связывания НК-клеток с тканями-мишенями. НК-клетки присутствуют главным образом в популяции больных.

Наиболее яркие примеры гиперчувствительности II типа — это антиэритроцитарные реакции. Они могут вызывать тяжелые последствия в следующих случаях: переливание несовместимой кро-

ви, когда реципиент sensibilized к поверхностным антигенам эритроцитов донора; гемолитическая болезнь новорожденных, возникающая в результате sensibilization беременной женщины эритроцитами плода, и аутоиммунные гемолитические анеми, когда большой sensibilized собственными эритроцитами.

### 3.6.3. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ III ТИПА

- Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антигена с антигеном и разрушаются мононуклеарными фагоцитами после активации комплемента.
- Персистенция антигена при длительной инфекции или при аутоиммунном заболевании может приводить к болезни иммунных комплексов.
- Образование иммунных комплексов может происходить в крови, приводя к системным заболеваниям, или локально, например в легких.
- Комплемент способствует разрыву связей между антигеном и антигеном и поддерживает иммунные комплексы в растворимом состоянии.
- При недостаточности комплемента происходит образование крупных, слабодиспергируемых комплексов с отложением их в тканях.
- Положительно заряженные антигены обладают способностью связываться с тканями, особенно с почечными клубочками, и способствовать локальному накоплению комплексов в почках.
- Факторы, повышающие проницаемость кровеносных сосудов, увеличивают отложение иммунных комплексов в тканях.

Иммунные комплексы образуются при каждой встрече антигена с антигеном и обычно эффективно разрушаются мононуклеарными фагоцитами, но иногда сохраняются в течение длительного времени и откладываются в различных тканях и органах. Развивающиеся в результате повреждения, опосредуемые комплексом и эффекторными клетками, называют реакциями гиперчувствительности III типа, или болезнью иммунных комплексов.

В каких местах происходит отложение иммунных комплексов, отчасти зависит от локализации антигена в тканях и отчасти — от условий попадания комплексов из крови в ткани.

**Типы болезней иммунных комплексов.** Болезни, обусловленные образованием иммунных комплексов, можно разделить на три большие группы: связанные с персистирующей инфекцией, связанные с аутоиммунными заболеваниями и связанные с вдыханием антигенного материала (табл. 3).



### 3. Три категории болезней иммунных комплексов

Причина	Антиген	Место отложения комплексов
Персистенция инфекции	Микробные антигены	Инфицированный орган(ы), почки
Аутоиммунитет	Аутоантиген	Почки, суставы, артерии, кожа
Выведенные антигены	Антигены животного, растительного или животного происхождения	Легкие

**Персистенция инфекции.** Сочетание хронической инфекции со слабым гуморальным ответом приводит к постоянному образованию иммунных комплексов и в конце концов к их отложению в тканях. К болезням с такой этиологией относятся лепра, малярия, геморрагическая лихорадка денге, вирусный гепатит и стафилококковый эндокардит.

**Аутоиммунные заболевания.** Болезнь иммунных комплексов часто является осложнением аутоиммунных заболеваний, при которых хроническое образование комплексов обусловлено непрерывной продукцией антигенов к аутоантигенам. По мере увеличения количества иммунных комплексов в крови ответственные за их удаление системы (мононуклеарные фагоциты, эритроциты и комплемент) перестает справляться со своей задачей, и комплексы начинают откладываться в тканях. Болезни с такой этиологией включают ревматоидный артрит, системную красную волчанку (СКВ) и полимиозит.

**Вдыхание антигенного материала.** При действии внешних антигенов иммунные комплексы могут образовываться на поверхности стенок сосудов. Такие реакции наблюдаются в легких после повторного вдыхания антигенных компонентов актиномицетов, а также антигенов растительного или животного происхождения. К подобным болезням относятся, например, «легкое фермера» и «легкое голубевода», при которых в крови присутствуют антигены к антигенам актиномицетов (из заплесневшего сена) или к белку из экскрементов голубей. Оба эти заболевания представляют собой формы экзогенного аллергического альвеолита и развиваются лишь при повторном воздействии антигена. (Антигены к таким антигенам относятся преимуственно к классу IgG, а не IgE, который характерен для реакций гиперчувствительности I типа.) Когда антиген вновь поступает в организм аэрогенным путем, в альвеолах образуются локальные иммунные комплексы, что приводит к воспалению и фиброзу (рис. 53). Препитирующие антигены к антигенам актиномицетов обнаруживаются в сыворотке крови у 90 % больных с «легким фермера», но в то же время присутствуют у некоторых лиц, не страдающих этим заболеванием, и отсутствуют у части больных. Таким образом, в патогенезе этого экзогенного аллергического альвеолита принимают

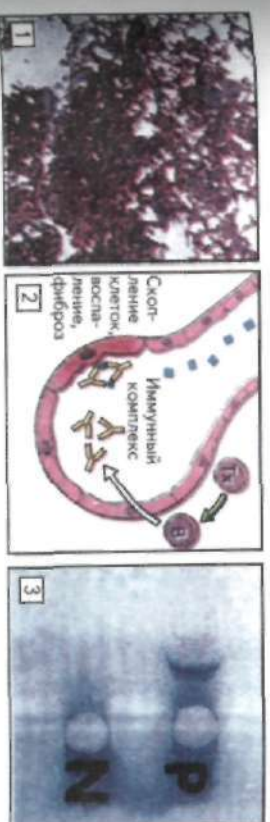


Рис. 53. Экзогенный аллергический альвеолит.

При попадании антигена актиномицетов в легкие сенситизированных лиц в альвеолах образуются иммунные комплексы (2). Связывание комплемента приводит к накоплению клеток, воспалению и фиброзу. Гистологическое исследование легких при экзогенном аллергическом альвеолите (1) обнаруживает скопления клеток и скопления иммунных комплексов. Препитирующие антигены, присутствующие в сыворотке при болезни «легкое голубевода» (1, 3), направляют против антигенных белков птичьего помета

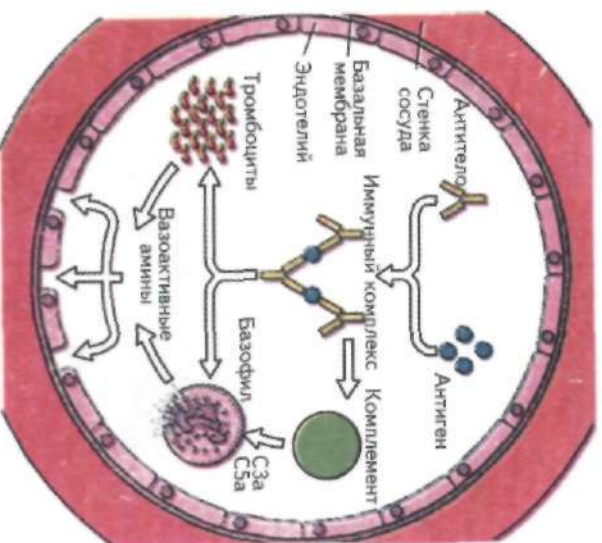


Рис. 54. Отложение иммунных комплексов в стенках кровеносных сосудов — 1.

Иммунные комплексы влияют на комплемент, стимулируя образование фрагментов C3a и C5a, которые, в свою очередь, усиливают выделение базофилами вазоактивных аминов. Комплексы непосредственно воздействуют также на базофилы и тромбоциты (у человека), вызывая выделение вазоактивных аминов. Выделившиеся амины (например, гистамин и 5-гидроксириптин) приводят к сокращению эндотелиальных клеток и тем самым усиливают сосудистую проницаемость.



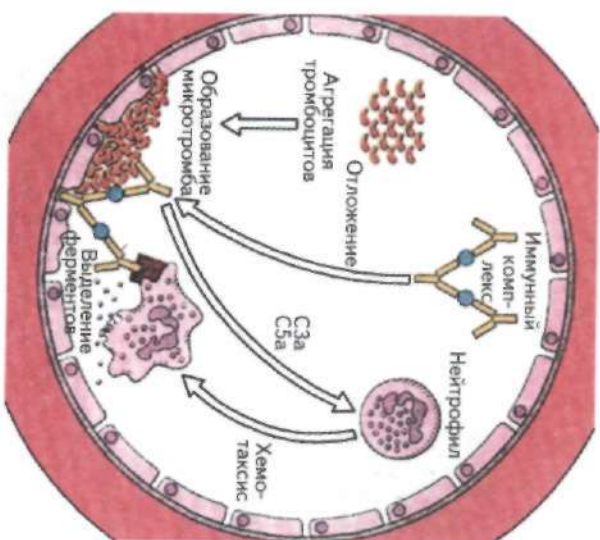


Рис. 55. Отложение иммунных комплексов в стенках кровеносных сосудов — II.

Повышенная проницаемость сосуда создает возможность отложения иммунных комплексов в его стенке. Иммунные комплексы индуцируют агрегацию тромбоцитов и активацию комплексообразующих тромбоцитов, формируют микротромбы на обнаженном коллагене базальной мембраны эндотелия. К месту образования продуктов активации комплекса привлекаются нейтрофилы, которые, однако, не способны поглотить комплексы. Они путем экзотоза выделяют свои лизосомные ферменты, вызывающие дальнейшее повреждение сосудистой стенки.

Иммунокомплексный тип гиперчувствительности IV типа.

**Механизмы гиперчувствительности III типа.** Иммунные комплексы способны инициировать разнообразные воспалительные процессы. Они взаимодействуют с системой комплемента, способствуя образованию анафилатоксинов C3a и C5a, которые стимулируют выделение vasoактивных аминов (в том числе гистамина и 5-гидрокситриптамина) и хемотаксических факторов из тучных клеток и базофилов. Компонент C5 служит также хемотактантом для базофилов, эозинофилов и нейтрофилов.

В присутствии иммунных комплексов активируются макрофаги, выделяющие цитокины, в частности ФНО $\alpha$  и ИЛ-1, которые играют важную роль в процессах воспаления. Комплексы непосредственно взаимодействуют с базофилами и тромбоцитами (через Fe-рецепторы), что приводит к высвобождению vasoактивных аминов (рис. 54).

Вазоактивные амины, выделяемые тромбоцитами, базофилами и тучными клетками, вызывают ретракцию клеток эндотелия, увеличивая тем самым проницаемость сосудов, и создают возможность отложения иммунных комплексов на их стенках (рис. 55). Откладывающиеся комплексы продолжают стимулировать образование C3a и C5a.

На обнаженном коллагене базальной мембраны сосуда происходит агрегация тромбоцитов, чему способствует их взаимодействие с Fe-участками отложившихся иммунных комплексов; в результате образуются микротромбы. Агрегированные тромбоциты продолжают продуцировать vasoактивные амины и стимулировать образование C3a и C5a. (Тромбоциты служат также богатым источником факторов роста, которые могут участвовать в клеточной пролиферации, наблюдаемой при таких болезнях иммунных комплексов, как гломерулонефрит и ревматоидный артрит.)

К месту образования C5a мигрируют полиморфно-ядерные клетки. Они пытаются поглотить иммунные комплексы, но не способны это сделать, поскольку последние прикреплены к стенке сосуда. Поэтому полиморфно-ядерные клетки выделяют свои лизосомные ферменты путем экзотоза непосредственно в место отложения

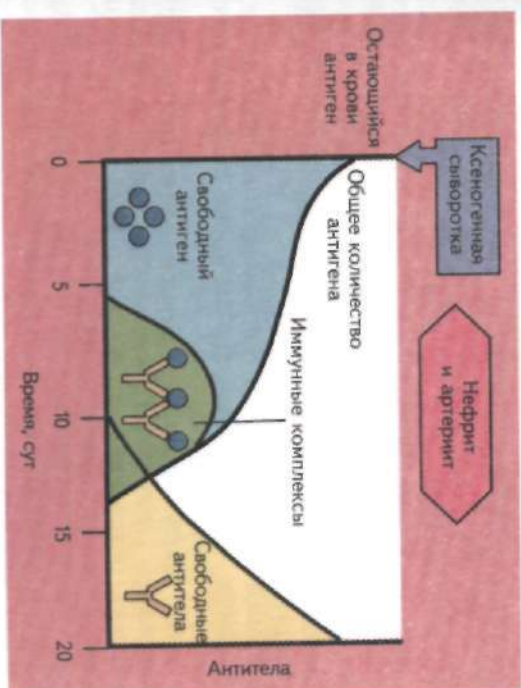


Рис. 56. Динамика экспериментальной сывороточной болезни.

После введения ксенотенной сыворотки наступает примерно 5 сут латентный период, в течение которого антиген в сыворотке присутствует только в свободной форме. Затем образуются антитела к чужеродным белкам и в сыворотке появляются иммунные комплексы, именно в это время возникают симптомы нефрита и артрита. Вначале, при избытке антигена, происходит образование лишь мелких растворимых иммунных комплексов. С увеличением титра антигена формируются более крупные комплексы и происходит их отложение в тканях, но при этом и быстрое разрушение. На этой стадии симптомы заболевания исчезают.

комплексов (см. рис. 54). При выделении лизосомных ферментов в кровь или тканевую жидкость они не вызывают сильного воспаления, поскольку быстро нейтрализуются сыровоточными ингибиторами, но в том случае, когда фагоцит приходит в близкое соприкосновение с фиксированным в ткани комплексом, связываясь с его Fc-фрагментом, действие сыровоточных ингибиторов исключается, и лизосомные ферменты могут повредить ткань.

При внутривенном введении растворимого чужеродного белка, например бычьего сыровоточного альбумина (БСА), спустя примерно 1 нед у животного образуются антитела, которые в крови связываются с антигеном. Поскольку эта реакция происходит при избытке антигена, образующиеся иммунные комплексы имеют небольшие размеры (рис. 56). Такие мелкие комплексы медленно удаляются лишь системой мононуклеарных фагоцитов и поэтому долго сохраняются в крови. Вслед за образованием комплексов происходит резкое падение общего содержания комплексов; клинические признаки сыровоточной болезни обусловлены зернистыми отложениями комплексов антиген-антитело и образованием СЗ вдоль базальной мембраны почечных клубочковых капилляров и других мелких сосудов. По мере образования все больше комплексов антител и сдвиге реакции в сторону их избытка размеры комплексов увеличиваются и они начинают поглощаться быстрее; животное выздоравливает. При ежедневном введении антигена болезнь приобретает хроническое течение.

### 3.6.4. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ IV ТИПА

Известны три реакции гиперчувствительности IV типа: контактная, туберкулиновая и гранулематозная.

Нанесенный на кожу гаптен поглощают и процессируют клетки Лангерганса; эти же клетки презентруют гаптен антигенспецифическим Т-лимфоцитам.

Цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками кожи (например, кератиноцитами, клетками Лангерганса или Т-лимфоцитами), обуславливают участие в реакции антигенспецифических Т-лимфоцитов и макрофагов.

Реакцию гиперчувствительности туберкулинового типа можно использовать в качестве диагностической пробы на присутствие многих инфекционных агентов.

Персистенция антигена приводит к дифференцировке макрофагов в эпителиоидные клетки и их слиянию с образованием гранулематозных клеток. Этот патологический процесс, называемый гранулематозной реакцией, приводит к повреждению тканей.

Для гранулематозных реакций характерен определенный баланс между защитным иммунитетом к нерастворимому антигену и опосредованным Т-лимфоцитами повреждением ткани.

Формирование гранулемы связано с Т-клеточной активацией макрофагов и зависит от ФНО.

В отличие от других видов гиперчувствительности реакции IV типа могут быть перенесены от сенсibilизированного животного на несенсibilизированному не сыровоткой, а Т-лимфоцитами (у мыши Т<sub>H</sub>1-клетками). В основе таких реакций лежат механизмы защитного Т-клеточного иммунитета, однако полная корреляция между ним и гиперчувствительностью IV типа наблюдается далеко не всегда. Ответственные за осуществление замедленной реакции Т-клетки специфически сенсibilизированы антигеном в период предшествующего контакта с ним и действуют путем привлечения к месту реакции клеток других типов.

Известны три варианта реакций гиперчувствительности IV типа (см. ниже). Контактная и туберкулиновая реакции развиваются в течение 72 ч после действия антигена, тогда как гранулематозная реакция — лишь через 21...28 сут; гранулемы образуются в результате накопления и пролиферации макрофагов и могут сохраняться неделями. Эта форма гиперчувствительности IV типа вызывает наиболее серьезные клинические последствия. Необходимо отметить, что один и тот же антиген способен вызывать реакции разных видов, которые могут перекрывать друг друга. Названные три вида реакций замедленного типа исходно были выделены по характеру проявлений, возникающих при накоплении или внутрикожном введении антигена. Степень реакции обычно оценивают у животных по толщине пораженного участка кожи. Вслед за местной реакцией могут развиваться и различные системные иммунные реакции.

### 5. Варианты реакций гиперчувствительности замедленного типа

Замедленная реакция	Время максимального развития реакции
Контактная	48...72 ч
Туберкулиновая	48...72 ч
Гранулематозная	21...28 сут

Примечание. Контактная и туберкулиновая формы гиперчувствительности имеют сходную временную динамику и достигают максимума через 48...72 ч, в некоторых случаях (например, при воздействии нерастворимого антигена) через 21...28 сут развивается и гранулематозная реакция (например, при кожной пробе на лепру).

**Контактная гиперчувствительность** характеризуется экзематозной реакцией в месте воздействия антигена. Она часто возникает в результате контакта с такими веществами, как никель, хромат, применяемые в резиновой промышленности катализаторы. При контакте с токсически действующими раздражающими веществами экзема может возникать и без участия механизмов гиперчувствительности. Хотя начальные реакции в этих двух случаях



их различны, иммунологические сдвиги, развивающиеся после воздействия раздражителей и аллергенов, сходны между собой. Ключевая роль при контактной гиперчувствительности принадлежит клеткам Лангерганса и кератиноцитам.

*Гиперчувствительность туберкулинового типа* впервые была описана Р. Кохом. При подкожной инъекции фильтрата из культуры вызывающих туберкулез микобактерий (он содержит так называемый туберкулин — комплекс антигенов этих бактерий) у больных туберкулезом повышается температура и развивается общее болезненное состояние. В участке инъекции возникают уплотнение и отек.

Аналогичные реакции вызывают у sensibilizированных лиц растворимые антигены многих микроорганизмов, включая *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae* и *Leishmania tropica*. Кожную реакцию часто используют для проверки sensibilизации теми или иными микроорганизмами (рис. 57). Эту форму гиперчувствительности могут индуцировать и немикробные антигены, например бериллий и цирконий.

В реакции на туберкулиновую кожную пробу участвуют в основном моноциты. Кожная туберкулиновая проба позволяет выявить реакцию на растворимый антиген у ранее инфицированных лиц. После внутрикожной инъекции туберкулина sensibilizированным лицам антигенспецифические Т-лимфоциты активируются и начинают секретировать цитокины, опосредующие реакцию гиперчувствительности. Выделяемые Т-клетками ФНО $\alpha$  и лим-

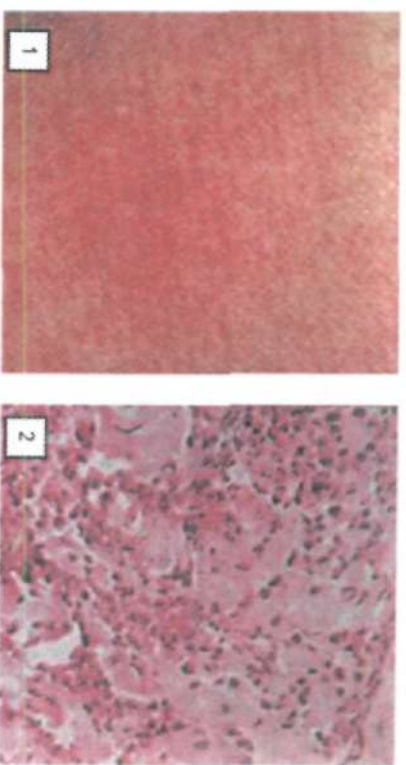


Рис. 57. Клиническое проявление и гистологическая картина реакции туберкулинового типа.

Реакцию sensibilizированных лиц на инъекцию возбудителя лепры называют реакцией Фридрикса. Она проявляется покраснением и набуханием участка кожи и достигает максимума через 48...72 ч после введения антигена (1). Гистологически (2) в дерме выделяется плотный инфильтрат из лейкоцитов и макрофагов. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 80$ .

фотоксин (ФНО $\gamma$ ) действуют на эндотелий кожных сосудов, индуцируя последовательную экспрессию молекул адгезии — Е-селектина, ICAM-1 и VCAM-1. Эти молекулы связываются рецепторами на поверхности лейкоцитов и привлекают их к месту реакции. На протяжении первых 4 ч здесь скапливаются нейтрофилы, но через 12 ч их замещают моноциты и Т-лимфоциты. Инфильтрат, распространяясь и разрушая пучки коллагена дермы, увеличивает до максимальных размеров через 48 ч. Количество Т-клеток CD4 $^{+}$  в инфильтрате примерно вдвое превышает число клеток CD8 $^{+}$ . Через 24 и 48 ч в инфильтрате дермы присутствуют клетки CD1 $^{+}$  (сходные с клетками Лангерганса, но лишенные берберовых гранул); в период между 24 и 48 ч некоторые клетки CD4 $^{+}$  проникают и в эпидермис.

Примерно 80...90% всех клеток инфильтрата приходится на долю моноцитов. И лимфоциты, и макрофаги, присутствующие в инфильтрате, экспрессируют молекулы МНС класса II, что повышает способность активированных макрофагов презентировать антиген. Через 48...96 ч после появления лимфоцитарного инфильтрата покрывающие его кератиноциты начинают экспрессировать молекулы HLA-DR. Эти процессы проиллюстрированы на рис. 58.

В реакциях гиперчувствительности туберкулинового типа основными АПК служат, вероятно, макрофаги. Однако в дермальном инфильтрате присутствуют и клетки CD1 $^{+}$ , что указывает на возможное участие в реакции клеток Лангерганса или каких-то иных дендритных клеток. Перемещение иммунных клеток в ретикулярные лимфатические узлы и из них в данном случае происходит, по-видимому, так же, как в случае контактной гиперчувствительности.

Нарушения, вызванные туберкулином, обычно исчезают через 5...7 сут, но при персистенции антигена в тканях они могут прогрессировать в гранулематозную реакцию. Субэпидермальная инфильтрация базофилами для такой реакции не характерна, но может отмечаться при некоторых реакциях контактной гиперчувствительности и кожных пробах с гетерологичными белками, например при реакции Джона—Мута.

*Гранулематозные реакции* представляют наиболее важную для клинической практики категорию гиперчувствительности IV типа; именно ими обусловлены многие проявления заболеваний, связанных с Т-клеточными иммунными реакциями. Обычно гранулематозные реакции развиваются при внутриклеточной персистенции в макрофагах микроорганизмов или других частиц, которые клетки не способны разрушить. Иногда (например, при алергическом альвеолите) причиной таких реакций является персистенция иммунных комплексов. В результате реакции формируется эпителиоидно-клеточная гранулема.

Гистологически гранулематозная реакция резко отличается от реакции туберкулинового типа. Однако обе они часто развивают-



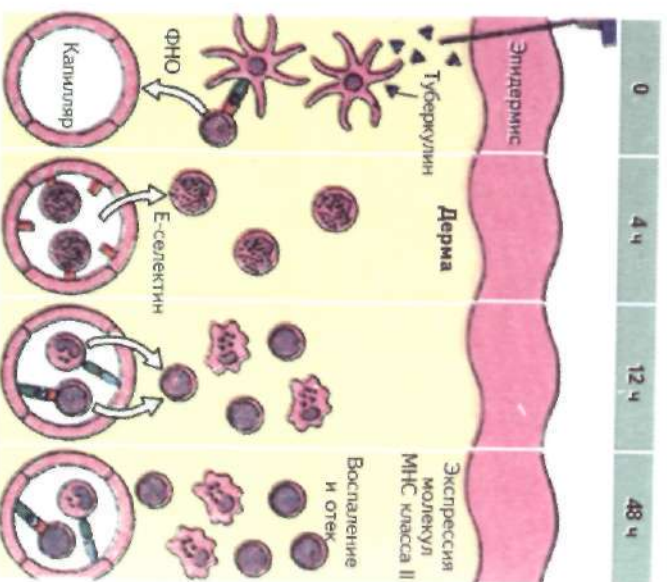


Рис. 58. Туберкулиновая форма гиперчувствительности.

Перечисленные клетки после внутривенной инъекции туберкулина. В первые 1...2 ч на эндотелии капилляров экспрессируется Е-селектин, что обуславливает кратковременный приток нейтрофильных лейкоцитов. Через 12 ч ICAM-1 и VCAM-1 на клетках эндотелия связываются с интегринами LFA-1 и VLA-4, экспрессирующимися на моноцитах и лимфоцитах, что приводит к накоплению этих клеток в дерме. Реакция достигает пика через 48 ч и сменяется экспрессией молекул МНС класса II на кератиноцитах. Отек эндермиса при этом отсутствует.

ся при сенсibilизации одними и теми же микробными антигенами, например *M. tuberculosis* и *M. leprae*. Формирование иммунологической гранулемы наблюдается также при гиперчувствительности к пироксону и берилию. При попадании в организм талька, кремния и многих других частиц гранулемы содержат эти неорганические вещества. Такие иммунологические гранулемы можно отличить по отсутствию в них лимфоцитов.

### 3.7. ИММУНИТЕТ К БАКТЕРИАЛЬНЫМ МИКОТИЧЕСКИМ ИНФЕКЦИЯМ

• О механизмах защиты против той или иной бактериальной инфекции можно судить по строению клеток возбудителя, особенно клеточной стенки, и факторам патогенности.

• Нейтрализующие антитела могут полностью обеспечивать защиту, если патогенность возбудителя связана только с токсином или адгезином.

• Неспецифические, филогенетически древние механизмы иммунитета — фагоцитоз, альтернативная активация комплемента и выделение цитокинов — действуют вследствие распознавания консервативных бактериальных структур.

• Комплемент может уничтожать некоторые бактерии, в первую очередь — грамотрицательные, т.е. имеющие наружный липидный бислой, или наружную мембрану, в составе клеточной стенки.

• Фагоциты способны уничтожать клетки большинства бактерий, осуществляя последовательно хемотаксис, связывание, поглощение и лизис.

• Патогенные микроорганизмы обладают разнообразными свойствами для обхода защитного действия комплемента и фагоцитов или для направления Т-зависимой активации фагоцитоза по ложному пути.

• Избыточное выделение цитокинов, вызываемое микробами, может быть причиной иммунопатологических синдромов, таких, как эндогенный шок и реакция Шварцмана.

• Хроническую иммунопатологию с повреждением тканей (как, например, при туберкулезе) вызывает, вероятно, дисбаланс в выделении цитокинов, приводящий к неадекватным эффектам.

• Иммунитет к грибам, вероятно, опосредован клетками и сходен с антибактериальным.

#### 3.7.1. ИММУНИТЕТ К БАКТЕРИЯМ

**Механизм антибактериального иммунитета.** Защитные механизмы, действующие при той или иной бактериальной инфекции, соответствуют структуре клеток возбудителя (направлены на их уязвимые участки) и факторам его патогенности.

Механизм иммунитета зависит от типа поверхности бактериальных клеток. Существуют четыре основных типа строения бактериальной клеточной стенки (рис. 59), и по этому признаку бактерии распределяются на следующие группы: грамположительные бактерии; грамотрицательные бактерии; микобактерии; спирохеты.

Наружная мембрана в составе клеточной стенки грамотрицательных бактерий чувствительна к литическому действию комплемента и некоторых цитотоксических клеток. Бактерии с клеточной стенкой другого строения могут быть уничтожены только путем фагоцитоза.

Некоторые бактерии несут на поверхности фимбрии или жгутики, многие покрыты защитной капсулой. Эти поверхностные



## Клеточные стенки бактерий

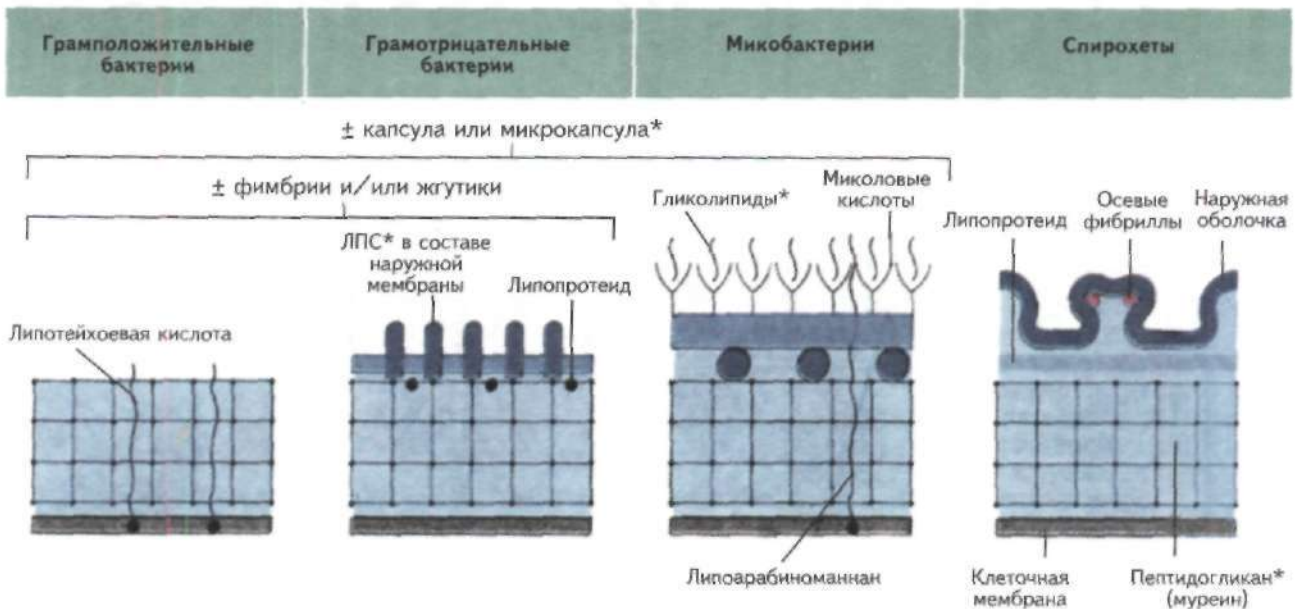
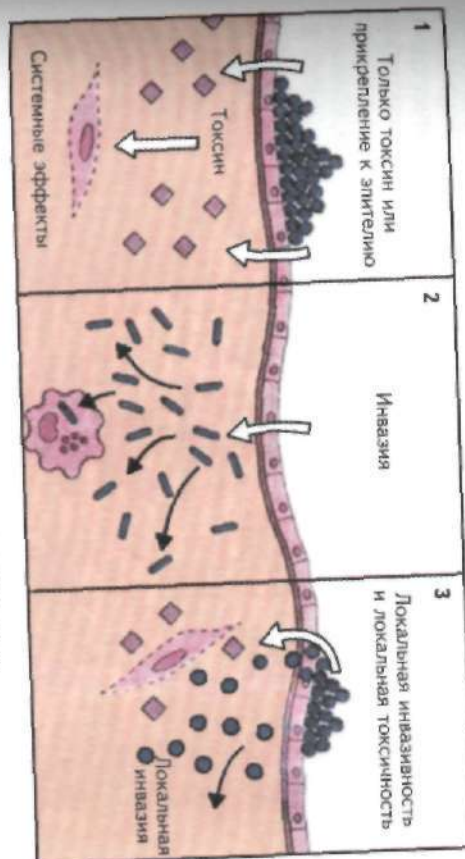


Рис. 59. Типы клеточных стенок микроорганизмов.

Существуют различные иммунологические механизмы разрушения клеточных стенок различных микроорганизмов. Микробы всех типов обладают цитоплазматической мембраной и пептидогликановой клеточной стенкой. Грамотрицательные бактерии, кроме того, имеют наружную мембрану, внешний слой которой содержит липополисахарид (ЛПС). Лизосомные ферменты и лизоцим разрушают структуру пептидогликана, а катонные белки и комплемент — наружную мембрану грамотрицательных бактерий. Клеточная стенка микобактерий чрезвычайно устойчива к различным воздействиям; по-видимому, ее разрушение возможно только при участии действующих изнутри ферментов самой бактериальной клетки. Некоторые бактерии имеют фимбри и жгутики, компоненты которых могут служить мишенями для антител. Часть бактерий обладает наружной капсулой, повышающей устойчивость к фагоцитозу или комплементзависимому лизису. Компоненты клеточных стенок, обозначенные на рисунке звездочкой, обладают иммуноадаптивными свойствами, т. е. воспринимаются иммунной системой как неспецифический сигнал, усиливающий иммунный ответ.

Рис. 60. Механизмы патогенности бактерий.



1. Некоторые бактерии способны вызывать болезнь, не проникая из очага инфекции в ткани организма. Патогенность их обусловлена выделением одного токсина, как, например, у *Corynebacterium diphtheriae* и *Clostridium tetani*, либо способностью прикрепляться к клеткам эпителия и выделять целый ряд токсинов и ферментов, как у стрептококковой группы А, вызывающих, в частности, ангину. Для иммунитета в этих случаях может быть достаточен антител, не обладающий нейтрализующим фактором патогенности. 2. Другие бактерии, напротив, не обладают токсичностью, но вызывают заболевание в результате проникновения в ткани, а иногда и в клетки организма, повреждая их главным образом в результате интенсивного размножения. В результате иммуннопатологических реакций (например, при лептоспирозной лихорадке или в результате иммуннопатологических реакций в клетках, действующих механизмом клеточного иммунитета). Уничтожение бактерий, проникающих в клетки, действует механизм между этими крайними типами патогенности. Бактерии занимают промежуточное положение между этими крайними типами патогенности, обладая одновременно локальной инвазивностью, локальной токсичностью и ферментами, разрушающими внеклеточную матрицу (*Staphylococcus aureus* и *Clostridium perfringens*). В янтге против них принимают участие как антитела, так и механизмы клеточного иммунитета.

структуры могут препятствовать фагоцитозу или действию комплемента, но они же являются мишенью для антител, роль которых будет рассмотрена ниже.

Механизмы иммунитета соответствуют также факторам патогенности бактерий. Двумя крайними формами патогенности бактерий можно считать: токсигенность без инвазивности и инвазивность без токсигенности (рис. 60).

Однако в реальности большинство бактерий занимает по характеру патогенности промежуточное положение между этими полюсами, например проявляя в некоторой степени инвазивность, обусловленную, как правило, локальным действием своих токсинов и разрушением тканей ферментами (факторы распространения).

Примером бактерий, которые считаются токсигенными, но не инвазивными, могут служить *Corynebacterium diphtheriae* и *Vibrio cholerae*. Поскольку патогенность этих возбудителей почти полностью обусловлена образованием токсина, для защиты от них, все-



рогно, вполне достаточно действия антител, нейтрализующих токсин, хотя при этом могут быть важны и антитела, которые связываются с бактериями и предотвращают таким образом их прикрепление к эпителию. Патогенность высокоинвазивных бактерий, напротив, не обусловлена, как правило, каким-либо одним токсином, поэтому механизмы иммунитета против них направлены на уничтожение самих клеток возбудителя.

Известны нетоксигенные, но инвазивные штаммы *S. dysenteriae*, вызывающие тяжелую патологию. В некоторых случаях *S. dysenteriae* и *V. cholerae* проникают из очага первичной колонизации через кровоток в другие внутренние органы; обнаружены присущие этим бактериям факторы инвазивности. Все это едва ли позволяет называть возбудителей дифтерии и холеры неинвазивными в строгом смысле слова.

Установлено, что первая линия обороны от бактерий не связана с распознаванием антигенов. Самую первую линию защиты от патогенных бактерий создает барьер, образуемый наружными покровами тела; он препятствует проникновению микроорганизмов или развитию инфекции. Так, кожа и находящиеся в контакте с ней слизистые оболочки эпителия снабжены неспецифическими, или врожденными, механизмами защиты от внедрения микробов. Поврежденная кожа просто непроницаема для большинства бактерий. Кроме того, для многих из них токсичны выделяемые кожей жирные кислоты. Патогенность некоторых штаммов бактерий коррелирует с их способностью выживать на коже. Эпителиальные покровы очищаются от бактерий благодаря, например, движению ресничек в трахее и току мочи в мочевыводящих путях. Во влагалище и желудке многие бактерии погибают вследствие кислой реакции среды. Влажный эпителий секретирует лигнотен, который ряд бактерий-комменсалов метаболитизирует с образованием молочной кислоты. Вообще комменсалы способны препятствовать инвазии патогенных бактерий, продвигая антибактериальные белки, называемые *коллицины*. Поэтому нарушение нормальной микрофлоры антибиотиками может привести к инфекции, вызываемой *Candida* или *Clostridium difficile*.

В действительности лишь ничтожной части окружающих нас потенциально патогенных микробов в редких случаях удается проникать в ткани организма.

Действие второй линии обороны связано с распознаванием обших для разных бактерий клеточных компонентов. Проникшие в ткани бактерии вначале могут быть атакованы действующими во внутренней среде организма механизмами врожденного иммунитета. Множество компонентов бактериальных клеток иммунная система распознает без участия антигенспецифических рецепторов В- или Т-лимфоцитов — благодаря действию филогенетически древних механизмов грубого распознавания, появившихся в эволюции раньше антигенспецифических Т-клеток и иммуногло-

булинов. В результате такого распознавания иммунный ответ вырабатывается для разных бактерий клеточные компоненты. Многие бактерии, например непатогенные коки, по-видимому, устраниваются из тканей организма в результате действия именно таких механизмов, без формирования специфического (адаптивного) иммунного ответа. Пути грубого распознавания и его мишеней — общие микробные компоненты — перечислены на рис. 61. Примечательно, что используемый для определения примеси бактериального липополисахарида (ЛПС) в лекарственных препаратах «лимпус-тест» основан на одном из таких механизмов распознавания, обнаруженном у беспозвоночных: в гемолимфе мезохостов *Limulus polyphemus* следовые количества ЛПС вызывают образование фибрина, волокна которого обезвреживают ЛПС-содержащий инфекционный агент.

Липополисахарид (ЛПС) — компонент наружной мембраны грамотрицательных бактерий — связывается в плазме крови с растворимым маркером CD14 (sCD14) и липопротеидами частицами. Катализатором этого взаимодействия служат липидпереносивший белок, названный ЛПС-связывающим (ЛСВ). Связывание

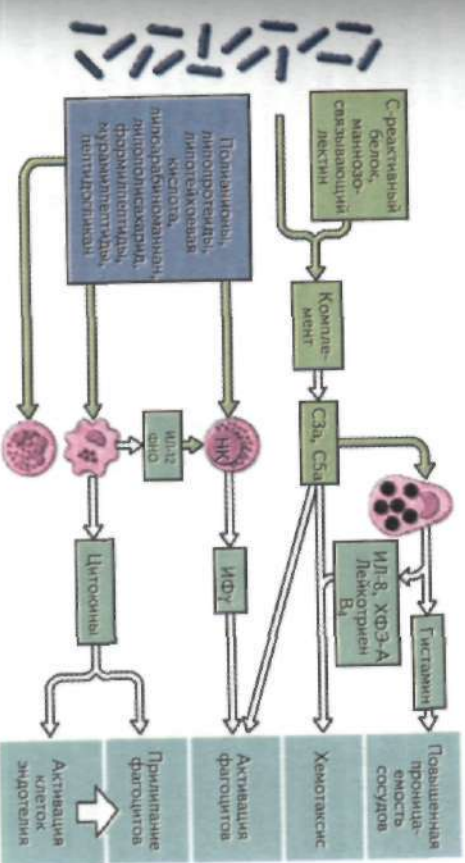


Рис. 61. Независимые от антигенспецифических В- и Т-клеток механизмы антимикробной защиты.

Некоторые обшие для разных бактерий структурные компоненты распознаются определенными молекулами плазмы крови и клеточными рецепторами. Это распознавание вызывает следующие эффекты: 1) активную активацию комплемента (при участии C3, B, D, P) с последующим образованием C5a и C5b, 2) активацию нейтрофилов, макрофагов и НК-клеток с выделением цитокинов, 3) депрессию тучных клеток, обеспечивающую усиление местного капиллярного кровотока, и 4) стимуляцию активации циркулирующих клеток крови и фибрина к эндотелию. Действие этих механизмов и повреждение тканей бактериями вызывают локальное свертывание крови, и образующийся фибрин создает преграду для распространения бактерий. (ХФЭ-А — гемостатический фактор А-эозинофилов)



липопротеидной частицей приводит к нейтрализации ЛПС, связывание же sCD14 вызывает клеточную активацию, поскольку CD14 присутствует в организме также и в форме GPI-связанного мембранного белка (mCD14) нейтрофилов и макрофагов, и ЛПС из комплекса с растворимым CD14 переходит в комплекс с его мембраносвязанной формой. Комплекс mCD14-ЛПС, ассоциируя с другими мембраносвязанными факторами, передает внутрь клетки сигналы, повышающие экспрессию интернов (молекул межклеточной адгезии) и выделение ФНО $\alpha$  и ИЛ-1. В свою очередь, эти цитокины активируют эндотелиальные клетки и вызывают острофазный ответ в печени. Один из продуктов острофазного ответа — это ЛСВ.

Механизм реакции на ЛПС включает нейтрализацию ЛПС (путем связывания липопротеидными частицами) и, кроме того, перенос этого бактериального продукта на клеточную мембрану лейкоцитов, а также, вероятно, эндотелиальных клеток. Взаимодействуя с молекулами их поверхности, ЛПС может активировать соответствующие эффекторные функции этих клеток (см. рис. 41). Подобным образом могут распознаваться и вызывать ответ и другие филогнетически древние (консервативные) компоненты бактериальных клеток.

Активации приводит также к образованию фрагментов компонента С3а и С5а, вызывающих сокращение гладкомышечных волокон и деградацию тучных клеток (кроме того, С5а связывается с нейтрофилами и активирует их). Последующее высвобождение из клеток гистамина и лейкотриена (LTB $_4$ ) еще сильнее повышает сосудистую проницаемость (см. рис. 61). Опсонизация поглощений продуктами расщепления С3 важна для последующего поглощения их фагоцитами.

Хемотаксис. За счет хемотаксиса в очаг инфекции поступает больше фагоцитов. Бактериальные продукты могут вызывать хемотаксис непосредственно и через активацию компонента.

Выделение цитокинов макрофагами. Фактор некроза опухолей (ФНО) и интерлейкин-1 (ИЛ-1) вызывают системную активацию фагоцитарных клеток и усиление их прилипания к эндотелию, что способствует миграции в воспаленную ткань. Фагоцитарные клетки выделяют также низкомолекулярные хемотаксические пептиды, называемые «хемотаксинами», которые усиливают ненаправленную подвижность клеток.

Выделение цитокинов нормальными клетками (НК-клетками). НК-клетки мыши, стимулированные ИЛ-12 или ФНО, могут выделять  $\gamma$ -интерферон (ИФ $\gamma$ ), который, в свою очередь, способен активировать макрофаги. Благодаря действию этого Т-независимого механизма мыши с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (нарушение созревания лимфоцитов) неожиданно проявляют устойчивость, например к *Listeria monocytogenes*.

Адьюванты эффе к т ы. Термин «адьювант» происходит от латинского *adjuvare* — помогать. В эксперименте иммунизации растворимыми антигенами вызывает более сильный Т-и В-клеточный ответ в случае их введения вместе с бактериальными продуктами, действующими как адьюванты. Наиболее известен полный адьювант Фрейнда, применяемый только для иммунизации лабораторных животных; он представляет собой масляную эмульсию убитых клеток *Mycobacterium tuberculosis*, перед введением животному этот препарат эмульгируют в водном растворе антигена. Адьювантный эффект, по-видимому, обусловлен именно тем, что антигенспецифический иммунный ответ развивается в лимфоидной ткани, уже содержащей упомянутые фармакологически активные бактериальные продукты. Ответ на введенный без них, чистый бактериальный антиген можно рассматривать как искусственную ситуацию, которая не встречается в природе.

«Выбор» необходимого лимфоцитарного ответа. Решающая роль в этом «выборе» принадлежит «адьювантным» компонентам бактерий и механизму раннего выделения цитокинов. Разные виды бактерий оказывают оптимальный адьювантный эффект в отношении различных компонентов иммунной системы. Это может отражать необходимость примерного «таксономического определения» микроба для активации соответствующих эффекторных механизмов иммунного ответа. Вызываемые бактериями выделения цитокинов также вносят свой вклад в выбор адекватной формы иммунного ответа на этом этапе.

Выбор неадекватных форм иммунного ответа. Некоторые микробы за счет своих адьювантных свойств способны направлять иммунный ответ по пути не эффективных в данном случае механизмов. Как правило, адьювантные свойства возбудителей полезны для организма-хозяина, но в отдельных случаях они вызывают нарушения иммунорегуляции, в частности активную неподходящую супопуляцию Т-хелперов (Тх-клеток). Наиболее наглядный пример этого можно наблюдать при экспериментальном заражении мышей патогенным простейшим *Leishmania major*. При активации Тх2-клеток развивается болезнь со смертельным исходом, тогда как активированные Тх1-клетки обеспечивают полную защиту.

Шоковые синдромы. Если происходит слишком быстрое и обильное высвобождение цитокинов, возможно развитие различных, потенциально смертельных синдромов острого повреждения тканей.

Обеспечение антигенами антигенспецифической защиты. Защитный эффект взаимодействия антигенов с бактериями зависит от механизма патогенности данного возбудителя. Когда она обусловлена действием бактериального токсина, антигенам принадлежит решающая роль в иммунном ответе. Они, например, нейтрализуют дифтерийный токсин, блокируя прикрепление к клеткам-ми-

шением связывающего участка его молекул. Подобным же образом антигены могут инактивировать локально действующие токсины и ферменты (бактериальные факторы распространения), которые разрушают межклеточное вещество соединительной ткани, а так же обезвреживают бактерии, связываясь с их жгутиками.

В защите слизистых оболочек от многих инфекций существенная роль принадлежит секреторному IgA (sIgA). Этот иммуноглобулин блокирует прикрепление бактерий к эпителиальным клеткам. Например, эфektorным механизмом иммунитета при стрептококковой ангине является образование антигел к М-белкам стрептококков группы А. Возможно также, что антигел к опрделенным антигенам бактериальной поверхности способен ингибировать, например, такие важные для роста микробов процессы, как связывание хелатов железа или поглощение других питательных веществ (рис. 62).

В то же время в случае инфекции, вызванной нетоксигенными микробами, основная функция антигел состоит в том, чтобы наиболее эффективно превращать возбудитель инфекции в мишень для комплемента. При участии антигел комплемент повреждает бактерии, даже устойчивые к альтернативному (т. е. врожденному) механизму его бактериолитического действия (см. ниже). Кроме того, антигел усиливает связывание и поглощение натуженных СЗб и iСЗб бактерий фагоцитами (рис. 63). Самой высокой комплементсвязывающей активностью у человека обладают антигелы изотипов IgG1, IgG3 и IgM. Помимо этого, IgG1 и IgG3 имеют наибольшую аффинность к клеточным Fe-рецепторам.

**Способность патогенных бактерий избегать разрушающего действия комплемента.** Капсулы некоторых видов бактерий почти не вызывают альтернативной активации комплемента.

В то же время длинные боковые полисахаридные цепи (О-антиген) бактериального липополисахарида могут связывать СЗб, но на некотором удалении от чувствительного к действию комплемента липидного бислов мембраны, так что лизиса не происходит. Подобным этому механизмом обладают клетки гладких вариантов прамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Salmonella* и *Pseudomonas*) — они способны связывать, но затем быстро отщеплять лизирующий мембрану комплекс СЗб—C9.

Другие бактерии используют физиологические механизмы организма-хозяина, защищающие собственные клетки от комплемента. Как известно, связывание СЗб с клеточной поверхностью может приводить либо к дальнейшему образованию этого фрагмента в результате взаимодействия с фактором В, либо к его инактивации факторами Н и I. Бактериальные капсулы с высоким содержанием сиаловой кислоты (сходные этим с клеточными мембранами хозяина), по-видимому, стимулируют взаимодействие СЗб с факторами Н и I. Именно благодаря этому механизму *Neisseria meningitidis*, *E. coli* K1 и стрептококки группы А совер-

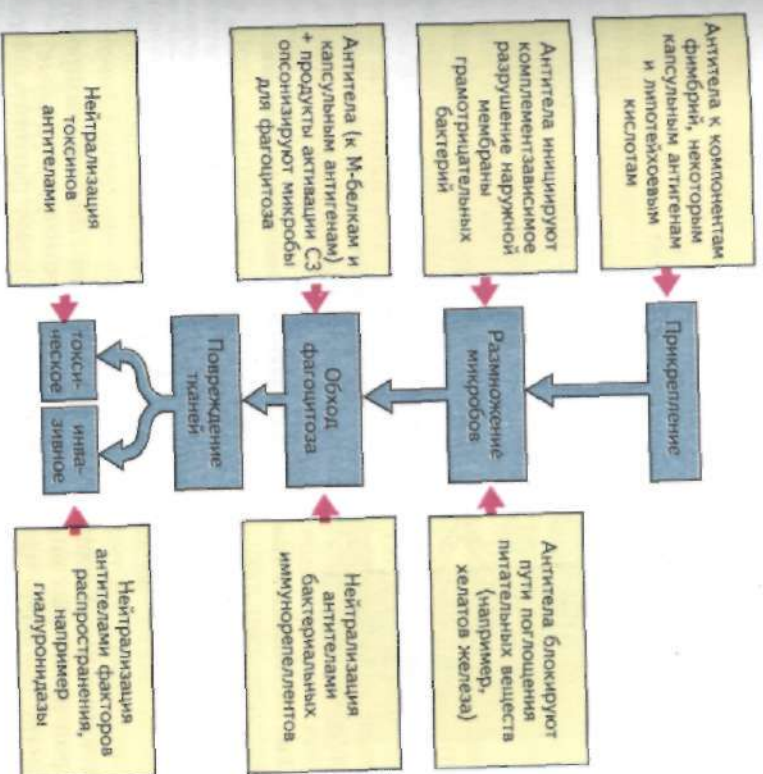


Рис. 62. Функции антигел в противомикробной защите.

Стадии бактериальной инвазии (синий цвет) и защитные эффекты антигел (желтый цвет). Антигелы к антигенным фрагментам, некоторым капсульным антигенам и липотейхоновым кислотам блокируют прикрепление бактерий к плазматической мембране клеток хозяина. Активные антигелы непосредственно блокируют разрушение бактериальной поверхности, ответственные за поглощение питательных веществ из внешней среды. Антигелы к М-белкам и капсульным антигенам бактерий окисняют бактерии, разрушают клетки для фагоцитоза, осуществляют при участии Fe- и C3-рецепторов фагоцитоз. Кроме того, антигелы ингибируют размножение бактерий (бактериальные факторы, нарушающие нормальный хомеостаз или фагоцитоз), пептиды бактерий, а также выделяемые или факторы распространения, которые способствуют инвазии, например, путем разрушения межклеточного вещества соединительной ткани или фибрина.

шесно неуязвимы для комплемента. Более того, М-белок стрептококков группы А действует как акцептор фактора Н, усиливая тем самым диссоциацию комплекса СЗбВ. Эти бактерии обладают также геном С5а-протеазы.

Как описано выше, некоторые бактерии, главным образом грамотрицательные, непосредственно лизируются комплементом. Опубликованы также данные о способности НК-клеток и даже



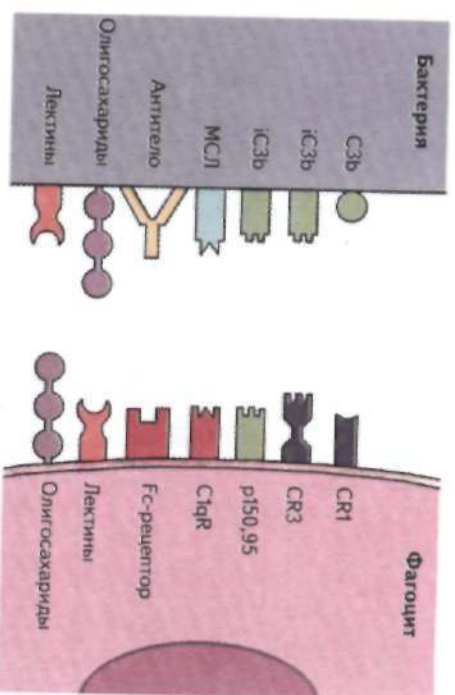


Рис. 63. Взаимодействие между бактериями и фагоцитарными клетками.

Связывание бактерий с мембраной фагоцита способствует ряду молекул. Проникает ли поглощение микробной клетки фагоцитом и ее последующий лизис, зависит от характера этого взаимодействия. За исключением компонентов комплекса, антигенов и маннозсвязывающих лектинов (MCL), которые приносят бактерии к бактериальной поверхности, все остальные молекулы на поверхности бактерий, участвующие в связывании, относятся к конститутивно экспрессируемым бактериальным компонентам.

Питотоксических Т-клеток (Тн) при простом контакте лизировать бактерии некоторых видов, как правило, грамотрицательные.

Однако большую часть бактерий уничтожают фагоциты. Процесс фагоцитоза состоит из нескольких стадий (см. рис. 47).

**Связывание фагоцитов с микробными клетками.** От этой важной стадии фагоцитоза зависит последующее поглощение микробов фагоцитами и сопряженная с поглощением активация механизмов лизиса. В связывании может участвовать ряд молекул. *Лектины микробных клеток*, например специфичный к маннозе лектин, присутствующий на поверхности фимбрий у *E. coli*. *Лектины фагоцитарных клеток* также имеют определенное значение. Особенно важны в качестве лектинов при фагоцитозе рецепторы комплекса CR3 и CR4 (p150,95) и структурно близкий к ним лейкоцитарный функциональный антиген-1 (LFA-1), относящийся к числу активных центров, специфичных к различным углеводным компонентам клеточных полимеров, и могут, в частности, связываться с  $\beta$ -глобулинами и ЛПС грамотрицательных бактерий. *Компоненты комплекса*, связывающиеся с микробной поверхностью благодаря классической или альтернативной активации. Недавно было установлено, что комплекс может связываться со специфичным к маннозе сывороточным лектином, фиксированным на бактериальной клетке и аффинным, кроме того, к рецеп-

торам для C3b фагоцитов. *Fc-рецепторы* фагоцитарных клеток способны взаимодействовать с антителами, связанными с бактериальными клетками (см. рис. 63).

**Запуск поглощения.** Связывание микробной клетки с рецептором на плазматической мембране макрофата не обязательно приводит к поглощению. Например, частицы, образованные зимозаном (дрожжевой полисахарид), при связывании с глюкокспещиным центром рецептора CR3 поглощаются макрофатом, тогда как эритроциты, нагруженные iC3b, не поглощаются, хотя эти компоненты комплекса также взаимодействуют с CR3.

**Запуск бактерицидных механизмов.** Подобно тому, как связывание мембранных рецепторов фагоцита с бактерией не гарантирует ее поглощения, само поглощение также не обязательно ведет к запуску бактерицидных механизмов. В частности, клетки *Yersinia pseudotuberculosis* сами индуцируют свое поглощение фагоцитами, но при этом дерегулируют синтез фактора, модулирующего сигнал эндоцитоза, так чтобы внутриклеточного разрушения микробных клеток не происходило.

Поглощенная фагоцитом микробная клетка подвергается действию нескольких бактерицидных механизмов.

**Кислородзависимые бактерицидные механизмы.** Реакции окислительно-восстановительного метаболизма (РМК). Их образование связано с активностью фермента, локализованного в клеточной мембране фагоцита. Этот фермент восстанавливает  $O_2$  с образованием супероксидного анион-радикала ( $O_2^-$ ) — токсичного РМК. В свою очередь, супероксидные радикалы превращаются в другие РМК. У многих хронических гранулематозов фагоцитарные клетки не образуют РМК и не способны поэтому уничтожать некоторые виды микроорганизмов. Это заболевание характеризуется очагами хронического воспаления, которое вызывают возбудители туберкулеза, например стафилококки. В фагоцитарных клетках, содержащих пероксидазу, образуются гипохлорит и подобные ему токсичные оксиданты. При наследственном дефиците миелопероксидазы возможно нарушение бактерицидной активности фагоцитов. Тканевые макрофаги не содержат пероксидазы и поэтому дают отрицательный результат в цитохимических тестах, основанных на пероксидазной активности.

**Реакции окислительно-восстановительного метаболизма (РМА).** Другой бактерицидный механизм основан на образовании токсичного для бактерий и опухолевых клеток оксида азота (NO). Для оптимального действия этого механизма в макрофагах мыши требуются активация их ИФУ и запуск механизма фактором некроза опухоли. Предположительно под действием NO в этих клетках погибают микобактерии. Гораздо труднее получить образование значительного количества NO в макрофагах. Как правило, для этого необходима целая серия стимулов, например воздействие нескольких цитокинов с одновременной перекрестной

спивкой молекул CD23 (рецептор IgE). По данным иммуногистохимического анализа, у человека макрофаги воспалительного очага иногда экспрессируют в значительном количестве ингибибельную синтазу оксида азота (иСОА), но не содержат достаточного количества тетрагидробиоиптерина — обязательного кофактора для образования NO.

**Кислородозависимые бактерицидные механизмы.** Роль этих механизмов, возможно, более существенна, чем предполагалось ранее. Так, фагоциты больных хроническим гранулематозом неспособны продуцировать РМК, а в случае наследственного дефицита миелопероксидазы — ионоватистую и хлорноватистую кислоты, но тем не менее они могут уничтожать разнообразные микроорганизмы. Частично это может быть обусловлено действием NO, но многие бактерии уничтожаются в анаэробных условиях, что указывает на существование других, не зависящих от кислорода бактерицидных механизмов, и некоторые из них идентифицированы.

Катионные антибиотикоподобные белки фагоцитируемых клеток. В макрофагах кролика и полиморфноядерных гранулоцитах человека обнаружены дефензины — богатые остатками пистина и аргинина катионные пептиды из 30...33 аминокислотных остатков. Они составляют в этих клетках от 30 до 50 % всех белков гранул. Дефензины вызывают образование ионных каналов в мембране микробной клетки. Вероятно, они начинают действовать сразу после образования фаголизосомы, еще до подкисления ее содержимого. Дефензины могут уничтожать самые разнообразные микробы, например *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Streptococcus neofortans* и обладающий оболочкой вирус простого герпеса. Кроме того, в фагоцитируемых клетках обнаружены катионные белки с различными pH-оптимумами, в частности катепсин G и азуроцилин, родственные эластазе, но обладающие неферментативной бактерицической активностью в отношении грамотрицательных бактерий.

**Другие антимикробные механизмы.** После сливания лизосом с фаголизосомой временно — на 10...15 мин — подкисляется, после чего pH понижается, т. е. происходит подкисление. Возможно, низкий pH сам по себе обеспечивает уничтожение некоторых микробов, но более вероятно, что он необходим для действия лизосомных ферментов, имеющих оптимум pH в кислой области. Некоторые грамположительные бактерии могут погибнуть под действием лизоцима — он разрушает легкотелный пептидогликановый слой их клеточной стенки. В уничтожении бактерий участвует и ряд других молекул, например лактоферрин, продуцируемый полиморфно-ядерными гранулоцитами. Он связывает железо, недоступное в такой форме для поглощения бактериями даже в кислой среде (при избытке железа полиморфно-ядерные гранулоциты теряют обусловленную лактоферрином способность уничтожать бактерии некоторых видов).

Возможно, все эти антимикробные механизмы функционируют только после сливания фагосом с лизосомами.

**Дополнительная активация макрофагов *in vivo* необходимыми кинами.** Для полной активации макрофагов *in vivo* необходимо воздействие на них лимфокинов, выделяемых T-клетками в ходе иммунного ответа. Чаще всего на макрофаги воздействует ИФН<sub>γ</sub>, стимулирующий кислородозависимые и другие бактерицидные механизмы. Имеются также сообщения об активации фагоцитов под действием ИЛ-2, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и других цитокинов. Для активации определенных функций фагоцитируемых клеток требуется воздействие различных комбинаций цитокинов.

Лимфокины оказывают на фагоциты *in vivo* два основных эффекта — привлечение и активацию, причем относительно значимое каждого из них варьируется в зависимости от микроорганизма. Например, для иммунитета к *L. топосугенес* наиболее важен эффект привлечения фагоцитов в очаг инфекции, поскольку клетки этой бактерии погибают под действием РМК внутри неактивированных моноцитов и нейтрофилов. Для устранения *M. tuberculosis*, напротив, требуется прежде всего активация нейтрофилов и моноцитов, так как эти микобактерии способны выживать внутри них.

**Внутриклеточные возбудители инфекций могут «скрываться» в клетках иммунной системы.** Способность T-клеток уничтожать инфицированные клетки. Некоторые бактерии способны выживать и активно размножаться внутри покровяных или метаболически неадекватных фагоцитов хозяина. Кроме того, они могут избежать уничтожения, перемещаясь внутри макрофагов из фагосом в цитоплазму. Так, клетки *Listeria monocytogenes* выходят из фагосом, так как выделяют ферменты, разрушающие мембрану этих органелл. Другие возбудители, например *Mycobacterium leprae*, способны вызывать свое поглощение клетками, которые обычно не относятся к фагоцитируемым и не обладают достаточной антибактериальной активностью. В этом случае микробные клетки не могут быть уничтожены активированными фагоцитами или другими бактерицидными механизмами, прежде чем будут освобождены из клеток, где они «спасаются». Их высвобождение осуществляют Th-клетки, разрушающие инфицированные клетки. Если исключить T-клеточное распознавание молекул МНС класса I, устраняя методом генного нокаута из мышиного генома ген *β<sub>2</sub>-микроглобулина*, мыши становятся чрезвычайно чувствительными к *M. tuberculosis*. Это свидетельствует о существенной роли цитотоксических T-клеток в иммунитете к микобактериям.

**Цитотоксичность γδ-T-лимфоцитов.** γδ-T-лимфоциты, как правило, обладают цитотоксичностью и способны разрушать инфицированные клетки. Значительная часть T-клеток, несущих γδ-рецептор, по-видимому, пролиферирует в ответ на бактериальные



антигены. Некоторые субпопуляции этих лимфоцитов избирательно заселяют («омини») эпителиальные покровы. Поэтому можно предположить, что им принадлежит существенная, пока не ясная роль в антимикробном иммунитете. Обычно они обладают цитотоксичностью и, возможно, разрушают инфицированные клетки.

Убежищем для некоторых бактерий, таких, как *M. leprae*, инвазивные виды *Shigella*, *Salmonella*, а также *Rickettsia* и *Chlamydia*, могут становиться клетки тканей, не относящиеся к иммунной системе. Как указано выше, такие инфицированные клетки, возможно, уничтожаются цитотоксическими Т-клетками. Наряду с этим рост внутриклеточно локализованных возбудителей может подавляться в результате активации фибробластов ИФУ; вероятно при этом действует NO-механизм, которым обладают не только фагоцитирующие клетки.

Чрезмерный выброс цитокинов. Это может привести к эндотоксическому шоку. Эндотоксический (септицемический) шок возникает при септицемии как следствие вызванного бактериальными продуктами обильного поступления в циркуляцию цитокинов. Как правило, шок вызывает эндотоксин — ЛПС грамотрицательных бактерий, хотя аналогичный синдром возможен и при грамположительной септицемии. Шоковый синдром представляет угрозу для жизни и проявляется как лихорадка, циркуляторный коллапс, диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови и геморрагический некроз; эти процессы приводят к недостаточности многих органов и систем.

Если ввести кролику суспензию клеток грамотрицательных бактерий, сначала внутривенно и через 24 ч внутривенно, в месте первой инъекции появится геморрагический некроз. Этот эффект назван по имени исследователя, наблюдавшего его впервые, реакцией Шварцмана. Кроме того, Г. Шварцманом было установлено, что две внутривенные инъекции с интервалом 24 ч вызывают системную реакцию, которая обычно приводит к циркуляторному коллапсу и двустороннему некрозу корковой части почек. Этот феномен, описанный также Г. Санарелли, называют системной реакцией Шварцмана или реакцией Санарелли—Шварцмана. Иногда она сопровождается некрозами в поджелудочной железе, гипофизе, надпочечниках и слизистой оболочке пищеварительного тракта. Для нее характерно острое диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови и тромбоз.

Как теперь известно, и многие другие инфекционные агенты, в том числе стрептококки, микобактерии, представители рода *Naemophilus*, коринебактерии и вирус коровьей оспы, способны «подготавливать» кожу таким же образом. «Разрешающий» эффект внутривенной инъекции обусловлен действием эндотоксина (ЛПС). Повреждение тканей при реакции Шварцмана в ранних публикациях связывали с альтерацией эндотелия, отложением

фирина, скоплениями и дегрануляцией нейтрофилов и тромбоцитов. Эти процессы действительно имеют место, но позднее выяснилось, что ключевыми медиаторами описанных реакций служат ФНО $\alpha$ , ИФУ, ИЛ-12 и ИЛ-1. Введение ФНО $\alpha$  в очаг воспаления (вызванного предварительной инъекцией бактерий) дает некроз аналогичного типа; по всей вероятности, введенный ФНО $\alpha$  действует так же, как в том случае, когда он доставляется кровотоком после внутривенного введения ЛПС.

Феномен Коха. Это вызванная Т-клетками некротическая реакция в очагах микобактериального поражения и при внутрикожной туберкулиновой пробе. Некротическую реакцию на антигены *M. tuberculosis* впервые наблюдал Роберт Кох у морских свинок, зараженных туберкулезом. Этот феномен, по меньшей мере отчасти, обусловлен высвобождением цитокинов в очагах вызванного Т-клетками воспаления (проявление гиперчувствительности туберкулинового типа) и, по-видимому, имеет отношение к патогенезу туберкулеза у человека и животных. Как и при реакции Шварцмана, эти очаги могут быть чрезвычайно чувствительны к тканеповреждающим эффектам цитокинов, особенно когда активность Тх1- и Тх2-клеток проявляется одновременно.

Суперантигены. Суперантигены распознаются без процессинга и презентации. Суперантигенами названы недавно идентифицированные компоненты бактерий, связывающиеся непосредственно (т.е. без процессинга) с вариабельными областями В-цепей (V $\beta$ ) антигенспецифических рецепторов некоторых субпопуляций Т-клеток и одновременно с молекулами МНС антигенпрезентирующих клеток (АПК). В результате такого связывания все Т-клетки, экспрессирующие соответствующий продукт V $\beta$ -гена, становятся активированными в отсутствие процессинга антигена и его презентации в виде пептидов в пептидсвязывающей полости молекул МНС, т.е. в отсутствие того, что требуется для нормальной Т-клеточной активации. Суперантигены обнаружены у стафилококков, стрептококков, микоплазм и других инфекционных агентов. Биологическая роль суперантигенов в качестве индукторов бактериальной адаптации остается неясной, но одним из основных их эффектов может быть интоксикация, вызванная массивным выбросом цитокинов (лимфокинов) многочисленными, одновременно стимулированными Т-клетками. По-видимому, именно таков патогенез синдрома токсического шока, вызываемого стафилококковыми токсинами, в частности TSST-1 (от англ. toxic shock syndrome toxin).

**Белки теплового шока** — высококонсервативные иммуннодоминантные антигены. Найденные у всех эукариотических и прокариотических клеток белки теплового шока выполняют важные функции в сборке, укладке и транспорте других молекул. Эти белки образуются в значительном количестве в клетках при аномально высокой температуре или при стрессе

иной природы, что, в частности, отражает их роль в стабилизации белковых структур. Аминокислотные последовательности белков теплового шока высококонсервативны (однотипны) у различных организмов; в связи с этим высказано предположение, что, по-аналогичным белками человека, они могут вызывать аутоиммунный ответ. Парадоксальным образом при протективном иммунном ответе белки теплового шока многих патогенных микроорганизмов воспринимаются иммунной системой вопреки такому сходству как иммунодоминантные (целевые) антигены. Это, однако, можно рассматривать как эволюционное преимущество, поскольку при помощи Т-клеток, распознающих набор консервативных эпитопов белков теплового шока, организм-хозяин способен, по-видимому, распознавать любой патогенный организм.

### 3.7.2. ИММУНИТЕТ К ГРИБАМ

О тонких механизмах иммунитета к микозам известно очень немного, но предполагается, что они в основном подобны механизмам устойчивости к бактериальным инфекциям. Микозы можно разделить на четыре основных типа.

Поверхностные микозы вызывают дерматомикозы, как правило, поражающие только отмершие кератинизированные компоненты эпидермиса кожи, волосы.

Подкожные микозы, например хромомикоз, споротрихоз и микетома, при которых в подкожной клетчатке образуются хронически воспаленные изъязвляющиеся узелки. Эти заболевания вызывают грибы-сапрофиты, проникающие в организм через травмированную кожу.

Респираторные микозы (мукомицоз, коцидиомикоз), скрытно или остро протекающие очаговые (изредка диссеминированные) поражения легких, часто с образованием специфических гранул.

Кандидоз — поверхностное (редко системное) поражение кожи и слизистых оболочек, вызываемое обычным компонентом микрофлоры человека, грибом-комменсалом *Candida albicans*.

Основу устойчивости к микотической инфекции составляет, по-видимому, клеточный иммунитет. Кожные инфекции, вызываемые грибами, обычно протекают как самоограничивающиеся, оставляя некоторую, весьма ограниченную устойчивость к повторному заражению. Основой этой устойчивости скорее всего служит клеточный иммунитет, судя по тому, что у выздоровевших пробы на гиперчувствительность замедленного (IV) типа с грибами антигенами дают положительный результат, тогда как у больных с хроническими поражениями, как правило, отрицатель-

ный. Т-клеточный иммунитет важен как защитный механизм и при глубоких микозах — иногда устойчивость к ним удается перенести иммунными Т-клетками. Предположительно Тх-клетки выделяют цитокины, мобилизующие макрофаги на уничтожение грибов. При респираторных микозах клинические проявления до некоторой степени напоминают наблюдаемые при лепре. Нарушение иммунофизиологии под действием иммунодепрессивных лекарственных средств или подавление антибиотиками нормальной микрофлоры могут стать причиной поражения организма грибами рода *Candida*. Кандидоз часто развивается также при синдромах иммунологической недостаточности (тяжелый комбинированный иммунодефицит, аплазия тимуса, СПИД и т. п.), что свидетельствует о важном значении иммунной системы для удержания грибов в нормальном статусе комменсалов.

Кроме того, имеются доказательства участия полиморфно-ядерных нейтрофилов в иммунном ответе при респираторных микозах, например вызванных муковыми грибами. Важная роль в устойчивости к грибам принадлежит, возможно, катионным белкам дефензином: фагоциты больных с нарушенными механизмами восстановления  $O_2$  способны тем не менее уничтожать дрожжевые клетки и мицелий грибов почти так же эффективно, как в норме. Против *Cryptosporus* активно действует NO-механизм, и не исключено, что он важен для устойчивости ко многим грибам.

**Контрольные вопросы и задания.** 1. Поясните сущность теорий иммуногенеза Гауовинга—Политта, Бернета—Феннера и Ерне. 2. Изложите современные представления об иммуноопозе. 3. В чем сущность теории боковых цепей П. Эрлиха? 4. Назовите источники и механизмы разнообразия антигенов. 5. Чем определяется функциональная аффинность, или avidность, взаимодействия антигенов с антителом? 6. Изложите механизм связывания антигенов с антителом. 7. В чем сущность распознавания антигена Т-клетками? 8. Что такое пресинг и презентация антигена? 9. Назовите основные функции цитокинов и хемокинов Т-клеток. 10. Дайте определение цитокинам и назовите их основные функции. 11. В чем роль цитокинов в иммунном ответе? 12. Назовите механизмы эффекторных и регуляторных функций макрофагов? 13. Опишите механизмы взаимодействия клеток при гуморальном иммунном ответе. 14. В чем отличительные особенности гиперчувствительности I, II, III и IV типов? 15. Назовите принципиальные отличия иммунного ответа на внедрение бактерий и грибной флоры.



## РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

• Иммуный ответ регулируется разнообразными механизмами, которые обеспечивают восстановление исходного состояния иммунной системы, после того как реакция на данный антиген перестает быть необходимой.

• Конечный результат любого иммунного ответа зависит от многих факторов, в том числе от свойств антигена, его дозы и пути поступления, а также от генетических особенностей организма.

• Иммуноглобулины могут играть в иммунном ответе положительную роль, действуя как антиинфлюэнциальные агенты или образуя иммунные комплексы. Возможна и отрицательная роль иммунных глобулинов в иммунном ответе, когда они ослабляют антигенный стимул, маскируя детерминанты антигена в результате связывания или способствуя выведению антигена из организма.

• Иммунный ответ может зависеть от способности антигенпрезентирующих клеток обеспечивать коstimуляцию Т-лимфоцитов. Регуляцию иммунного ответа способны осуществлять Т-клетки. Т-лимфоциты CD4<sup>+</sup> могут подавлять последующие иммунные ответы. Регуляторный эффект оказывают и Т-клетки CD8<sup>+</sup>. Продукция цитокинов Т-лимфоцитами влияет на тип иммунного ответа, вызываемого антигеном.

• Генетически иммунный ответ зависит как от генов МНС, так и от не относящихся к МНС генов. Кроме того, поскольку на него влияет нейроэндокринная система, он зависит и от генетических факторов, определяющих функции этой системы.

Иммунный ответ, как и все биологические функции, находится под контролем разнообразных регуляторных механизмов. Эти механизмы обеспечивают восстановление исходного, «неактивного» состояния иммунной системы, когда иммунный ответ на данный антиген более не требуется. Эффективный иммунный ответ — результат взаимодействия между антигеном и целой сетью иммунокомпетентных клеток. Характер иммунного ответа, как в количественном, так и в качественном отношении, зависит от многих факторов, в том числе от типа антигена, его дозы и пути поступления, от свойств антигенпрезентирующих клеток (АПК) и генетических особенностей организма, а также от присутствующей

шего контакта иммунной системы с данным или перекрестно реагирующим антигеном. На иммунный ответ способны влиять специфические антигены.

#### 4.1. АНТИГЕН КАК ФАКТОР ИММУНРЕГУЛЯЦИИ. АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ

Активация Т- и В-лимфоцитов происходит в результате эффективного связывания антигенного материала их антигенспецифическими рецепторами. Рецепторы Т-клеток взаимодействуют не с нативным антигеном, а с образовавшимися в результате его процессинга пептидными фрагментами, ассоциированными с молекулами МНС класса I или II. На результат иммунного ответа существенно влияет природа антигена, его доза и способ введения.

Тип иммунного ответа зависит от природы антигена. Различные антигены индуцируют иммунные ответы разных типов. Полисахаридные капсульные антигены бактерий обычно вызывают только гуморальный ответ (образование IgM), тогда как их белковые антигены — и клеточный, и гуморальный ответы. Микроорганизмы, локализующиеся внутри клеток организма-хозяина, в частности некоторые бактерии, паразиты и вирусы, индуцируют клеточный иммунный ответ, а растворимые белковые антигены — гуморальный. Клеточный иммунный ответ вызывают и такие антигены, как кремнийсодержащие соединения.

Эффективный иммунный ответ обеспечивает элиминацию антигена из организма. После этого лимфоциты возвращаются в состояние покоя (для поддержания пролиферации Т- и В-клеток необходим постоянный контакт с антигеном). Однако некоторые антигены (например, компоненты внутриклеточно локализуемых микроорганизмов) могут не столь эффективно удаляться из организма, что приводит к продолжению иммунного ответа в течение длительного времени с патологическими последствиями для организма.

В больших дозах антиген может индуцировать толерантность. Введение очень высокой дозы антигена нередко вызывает развитие специфической Т-клеточной, а иногда и В-клеточной толерантности. Подобный феномен часто наблюдается в случае инъекции антигена новорожденным мышам. Долгое время причиной этого считали незрелость иммунной системы. Однако теперь установлено, что у новорожденных мышей могут развиваться и полноценные иммунные реакции; отсутствие же иммунного ответа в ряде случаев связано не с незрелостью Т-клеток, а с так называемым иммунным отклонением, при котором доминирует образование непродуктивных цитокинов II типа вместо продуктивных цитокинов I типа. Как установлено, Т-независимые полисахаридные

антигены при введении в больших дозах индуцируют толерантность В-клеток.

В зависимости от пути поступления антигена иммунный ответ может возникнуть или отсутствовать. Как установлено, немаловажное значение для возникновения иммунного ответа имеет способ введения антигена. Антигены, введенные подкожно или внутривенно, вызывают иммунный ответ, тогда как при внутримышечной инъекции, приеме внутрь или применении в виде аэрозоля они могут индуцировать толерантность, либо иммунное отклонение. (В последнем случае вместо ответа, опосредуемого Т-лимфоцитами CD4<sup>+</sup> одного типа, возникает реакция, опосредуемая Т-лимфоцитами CD4<sup>+</sup> другого типа.) Например, грызуны в случае приема овалбумина (ОА) или основного белка миеллина (ОбМ) с кормом не реагируют на последующую стимуляцию соответствующим антигеном. Более того, применение ОбМ защищает животных от развития аутоиммунного заболевания — экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ). Этот феномен может быть использован с терапевтической целью при аллергических расстройствах; неславно проведенные исследования показали, что пероральное введение Т-клеточного эпитопа аллергена Der p1 клеща домашней пыли может обеспечить толерантность к нативному антигену. Механизм(ами) толерантности при этом может быть как энергия, так и иммунное отклонение.

Подобные наблюдения были сделаны и при использовании антигенов в форме аэрозолей. Эксперименты, проведенные на мышах, показали, что введение энцефалитогенного пептида интраназально в виде аэрозоля снижает интенсивность развития ЭАЭ, который возникает при последующем обычном (подкожном) способе введения пептида. Этот факт также может иметь значение для разработки методов лечебного воздействия, поскольку ингабировать ответ способен не только данный антиген, применяемый в виде аэрозоля, но и другие антигены, вызывающие ЭАЭ.

Наглядный пример того, как может влиять на иммунный ответ способ введения антигена, дано изучение инфекции, вызываемой у мыши вирусом лимфоплазменного хориоменингита (ВЛХМ). У мышей, примириванных пептидом в неполном альяванте Фрейнда путем его подкожного введения, развивается иммунитет к ВЛХМ. Однако если тот же пептид введен внутривенно, животные становятся толерантными и теряют способность элиминировать вирус.

Природа АПК, осуществляющих первоначальное представление антигена, может определять тип вызываемой им реакции — полноценный иммунный ответ или толерантность. Для эффективности активации Т-клеток необходимо присутствие на поверхности АПК коstimулирующих молекул. Поэтому презентация антигена дендритными клетками или активированными макрофага-

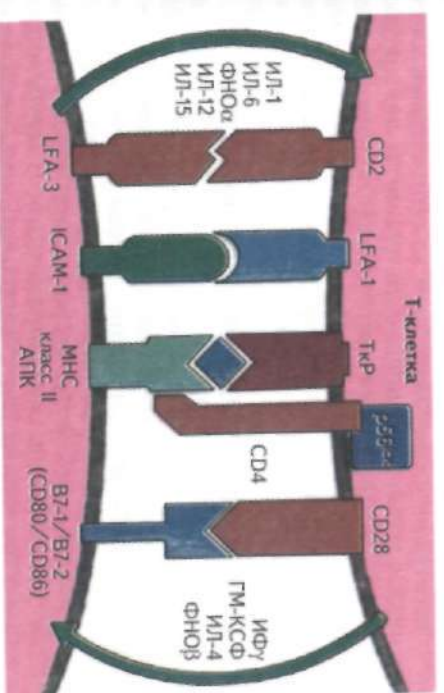


Рис. 64. Молекулы, наиболее важные для презентации антигена.

Молекулы, принимающие участие во взаимодействии между Т-клетками и АПК. Показаны также различные цитокины и направленность их действия

ми, которые экспрессируют в большом количестве антигены МНС класса II и наряду с ними коstimулирующие молекулы, ведет к высокоэффективной активации Т-клеток (рис. 64). Кроме того, взаимодействие молекул CD40L, экспрессируемых на поверхности активированных Т-лимфоцитов, и CD40 на поверхности дендритных клеток обеспечивает интенсивную продукцию этими последними ИЛ-12, необходимого для эффективного Тх1-ответа. Если же антиген презентируют Т-клеткам «непрофессиональные» АПК, которые неспособны обеспечить коstimуляцию, возникает аресактивность или иммунное отклонение. Так, представление антигена неstimулируемым Т-клеткам покоящимися В-лимфоцитами вызывает не активацию, а толерантность Т-клеток. Альяванты могут способствовать развитию иммунного ответа тем, что они индуцируют экспрессию антигенов МНС и коstimулирующих молекул с большой плотностью на поверхности АПК. Иллюстрацией этого служат результаты недавно проведенных экспериментов по изучению механизмов толерантности у новорожденных животных как более чувствительных к индукции толерантности, чем взрослые. Эти исследования показали, что резистентность к ЭАЭ, вызываемая введением ОбМ в неполном альяванте Фрейнда, связана с развитием доминантного Тх2-ответа. В возникновении ЭАЭ участвуют Тх1-клетки, а препятствующий Тх2-ответ на ОбМ предотвращает патологический Тх1-ответ.

Значение дендритных клеток в индукции ответа, опосредуемого цитотоксическими Т-лимфоцитами (Т<sub>H</sub>1), установлено в экспе-



риментах с переносом новорожденным мышам-самкам клеток от мышей-самцов. Самки, получившие спленциты, не продуцировали Тп-ответ на последующее введение Н-У-антигена мышей-самцов. В то же время перенос дендритных клеток обеспечивал развитие полноценного, Н-У-специфичного Тп-ответа.

## 4.2. РЕГУЛЯТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ АНТИТЕЛ

Как установлено, антитела осуществляют регуляцию иммунного ответа по механизму обратной связи. Пассивно введенные вместе с антигеном IgM-антитела специфически усиливают иммунный ответ на данный антиген, тогда как IgG-антитела его подавляют. Первоначально это было выявлено на модели пассивной иммунизации поликлональными антителами, а затем получило подтверждение в экспериментах с использованием моноклональных антител.

Способность пассивно введенных антител усиливать или подавлять иммунный ответ учитывают при вакцинации и используют в клинической практике.

Иммунизацию некоторыми вакцинами (например, против рожи свиней, эмкара) проводят обычно животным старше 3-месячного возраста, поскольку в течение по крайней мере 3 мес после рождения в крови молодняка имеется большое количество IgG-антител, полученных от матери, а присутствие таких пассивно приобретенных антител во время вакцинации может существенно снизить ее эффективность.

В случаях резус (Rh)-несовместимости введение резус-отрицательной матери антител анти-RhD предотвращает первичную сенсибилизацию Rh<sup>+</sup>-эритроцитами плода, возможно, в результате элиминации чужеродного антигена (эритроциты плода) из крови матери. Механизмы модуляции иммунного ответа под влиянием антител еще недостаточно полно выяснены. Предполагается, что повышение продукции близкородствующих клеток при действии IgM-антител может быть обусловлено двумя факторами.

Содержащиеся IgM иммунные комплексы поглощаются с участием Fe-рецепторов или С3-рецепторов на поверхности АПК и процессируются более эффективно, чем свободный антиген.

Содержащиеся IgM иммунные комплексы стимулируют образование антиидиотипических антител против IgM, которые усиливают иммунный ответ.

Опосредованная IgG супрессия может осуществляться разными путями.

**Блокирующее действие антител.** Пассивно введенные антитела связывают антиген, конкурируя с В-клетками. В этом случае эффект IgG-антител существенно зависит от их концентрации, а также от соотношения их аффинности к антигену с аффинностью

В-клеточных рецепторов. Успешно конкурируют с антителами за антиген только те В-клетки, которые обладают высокоаффинными рецепторами, причем механизм конкуренции не зависит от Fe-фрагмента антител.

**Перекрестное связывание рецепторов.** Антитела IgG также оказывают регуляторное действие; оно обусловлено Fe-фрагментом их молекул. Экспериментально установлено, что иммуноглобулин способен ингибировать дифференцировку В-клеток путем перекрестного связывания антигенного рецептора с Fe-рецептором (FcγRII) на поверхности той же клетки. В этом случае антитела могут распознавать различные эпитопы.

В дозах, недостаточных для полного подавления продукции антител, IgG повышает их среднюю аффинность в результате того, что успешно конкурируют с пассивно введенными антителами за антиген способны лишь В-клетки, обладающие высокоаффинными рецепторами. Как предполагается, регуляция по механизму обратной связи, осуществляемая антителами, играет важную роль в процессе повышения аффинности антител.

**Иммунные комплексы могут усиливать или подавлять иммунные реакции.** Один из механизмов модулирующего влияния антител (IgM или IgG) на иммунный ответ является Fe-зависимым и связан с образованием иммунных комплексов антиген-антитело. Иммунные комплексы могут ингибировать или усиливать иммунный ответ. Активируя комплемент, иммунные комплексы могут локализоваться путем взаимодействия с CR2 на фолликулярных дендритных клетках. Это способствует иммунному ответу, поскольку обеспечивает постоянный источник антигена. Рецептор CR2 экспрессируется также на В-клетках, и при этом известно, что коэвязывание CR2 с мембранным IgM (mIgM) активирует В-клетки; таким образом, взаимодействие иммунных комплексов с CR2, входящим в состав В-клеточного корцепторного комплекса, и mIgM может приводить к усилению специфического иммунного ответа. У больших со злокачественными опухолями иммунореактивность часто бывает подавлена; предполагается, что это связано с присутствием в крови иммунных комплексов, состоящих из антител и антигенов опухолевых клеток.

## 4.3. НЕИРОЭНДОКРИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Уже давно известно, что стрессовые ситуации могут служить причиной подавления иммунных функций организма, например снижения его способности преодолевать инфекции. Имеются многочисленные данные, указывающие на взаимодействие между нервной, эндокринной и иммунной системами. В общем виде два основных пути, посредством которых процессы, происходящие в

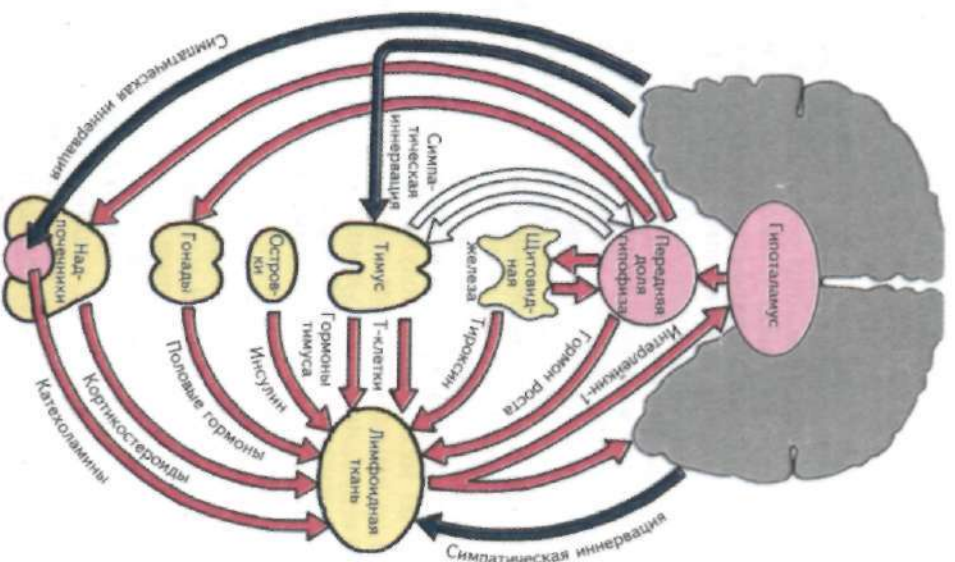


Рис. 65. Взаимодействие между нейроэндокринной и иммунной системами.

Некоторые из возможных связей между эндокринной, нервной и иммунной системами. Синими стрелками показана симпатическая иннервация, красными — действие гормонов, белыми — предположаемые связи, эффекторные молекулы для которых не установлены.

центральной нервной системе, могут отражаться на иммунной функции, состоят в следующем (рис. 65).

• Большая часть лимфоидной ткани имеет прямую симпатическую иннервацию — как кровеносных сосудов, проходящих через лимфоидную ткань, так и непосредственно самих лимфоцитов.

• Нервная система прямо или опосредованно контролирует секрецию различных гормонов, в частности кортикостероидов, гормона роста, тироксина и адреналина.

Лимфоциты экспрессируют рецепторы для многих гормонов, медиаторов и нейропептидов, включая рецепторы для стероидов, катеколаминов (адреналина и норадреналина), энкефалинов, эндорфинов, вещества Р и вазоактивного кишечного пептида (ВИП). Степень экспрессии рецепторов и клеточная реактивность различны у разных популяций лимфоцитов и моноцитов, в связи с чем эффект разных медиаторов также варьируется в зависимости от условий. Однако применительно к иммунной системе особое значение имеет регуляция, опосредованная кортикостероидами, эндорфинами и энкефалинами — агентами, которые высвобождаются при стрессе и обладают иммуносупрессивным действием *in vivo*. Эффекты эндорфинов *in vitro* существенно различаются в зависимости от экспериментальной системы и дозы: в одних дозах они оказывают супрессивное влияние, в других — усиливают иммунный ответ. Однако одним из важных факторов, регулирующих иммунный ответ по механизму обратной связи, служат, несомненно, кортикостероиды. Установлено, что сами лимфоциты способны реагировать на кортикотропин-рилизинг-гормон, синтезируя собственный АКТГ, который, в свою очередь, индуцирует секрецию кортикостероидов.

По имеющимся данным, кортикостероиды ингибируют продукцию цитокинов Th1-клетками, не влияя на Th2-ответ. Кроме того, они индуцируют образование ТФРФ, который может подавлять иммунный ответ. Предполагается, что низким уровнем кортикостероидов в плазме у крыс линии Lewis обусловлена повышенная предрасположенность этих животных к возникновению различных аутоиммунных процессов: после индукции ЭАЭ спонтанное выздоровление крыс связано с повышением содержания в крови кортикостероидов; адреналэктомированные животные не выздоравливают. Значение стероидов в предрасположенности к заболеванию продемонстрировано также на крысах линии PVG: в норме животные этой линии резистентны к ЭАЭ, однако становятся чувствительными к нему после адреналэктомии.

Взаимодействие между нейроэндокринной и иммунной системами не является однозначным. Установлено, что цитокины, в частности ИЛ-1 и ИЛ-6, действуют в обоих направлениях, играя роль модуляторов взаимодействия этих двух систем. Данные цитокины служат мощными стимуляторами продукции кортикостероидов надпочечниками благодаря своему влиянию на кортикотропин-рилизинг-гормон. Помимо того, что ИЛ-1 продуцируют макрофаги, а ИЛ-6 — Т-лимфоциты, способностью к синтезу обоих этих цитокинов обладают нейроны и клетки глии, а также клетки, локализованные в тимусе и надпочечниках. Это еще раз подчеркивает важную роль данных цитокинов как медиаторов двустороннего действия при реакции организма на стресс.



#### 4.4. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ

• Механизмы толерантности необходимы, поскольку иммунная система продуцирует огромное число разнообразных антигенспецифических рецепторов и некоторые из них оказываются специфичными к собственным антигенам организма; толерантность предотвращает нежелательные реакции против собственных органов и тканей.

• Центральная (тимическая) толерантность к «своим» антигенам (аутоантигенам) обеспечивается делецией тех дифференцирующихся Т-клеток, антигенспецифические рецепторы которых обладают высоким сродством к собственным антигенам, локализованным в тимусе. Низкоаффинные аутореактивные Т-клетки, а также Т-клетки с рецепторами к тем антигенам, которые не представлены в тимусе, созревают и пополняют пул периферических Т-лимфоцитов.

• Посттимическую толерантность к собственным антигенам обеспечивают три механизма: циркулирующие в крови аутореактивные Т-клетки могут просто «не замечать» собственные антигены, например, если антигены локализованы в не связанных с циркуляцией тканях; при определенных условиях аутореактивные клетки деформируются или становятся анергичными, неспособными взаимодействовать с антигеном. Очевидное состояние толерантности к собственным антигенам может также поддерживать механизм иммунного отклонения.

• Делеция В-клеток происходит в костном мозге; делецируются на ранней стадии дифференцировки те В-клетки, которые экспрессируют на своей поверхности иммуноглобулиновые рецепторы с высокой аффинностью к собственным мембраносвязанным антигенам.

• Аутореактивные В- и Т-клетки могут избегать делеции на периферии за счет снижения экспрессии антигенных рецепторов.

• Толерантность можно индуцировать искусственно различными способами, и некоторые из них применимы в медицине для предотвращения отторжения чужеродных трансплантатов и лечения аутоиммунных и аллергических заболеваний.

Иммунологическая толерантность — это состояние аркативности в отношении того или иного антигена; ее индуцирует предшествующий контакт с этим антигеном. Активно функционирующие механизмы толерантности необходимы для предупреждения воспалительных реакций в ответ на многие безвредные антигены, попадающие в организм с воздухом и пищей и действующие на слизистую оболочку дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Однако наиболее важна толерантность к собственным антигенам организма; она предотвращает иммунный ответ против собственных тканей. Между тем возможность такого ответа суще-

ствует, поскольку иммунная система продуцирует самые разнообразные антигенспецифические рецепторы, в том числе способные реагировать с аутоантигенами. Поэтому клетки, имеющие подобные рецепторы, должны быть функционально или физически элиминированы.

Способность организма предотвращать развитие иммунных реакций, направленных против собственных антигенов, не является генетически запрограммированной, а развивается в онтогенезе. Так, гомозиготные животные гистосовместимых линий А и В взаимно отторгают кожные трансплантаты другой линии, тогда как их гибриды F<sub>1</sub> (экспрессирующие антигены обоих родителей, А и В) воспринимают трансплантаты как А, так и В. Отторжение трансплантатов обоих типов вновь проявляется у гомозигот поколения F<sub>2</sub>. Таким образом, свойство различать «свое/не-свое» приобретается в онтогенезе: все эпителии (антигенные детерминанты), закодированные в ДНК организма, должны быть иммуннологически определены как «свои», а все другие — как «не-свои».

Однако способность отличать собственные антигены от чужеродных определяется не только структурой их молекул как таковых. Наряду со структурными особенностями эпителий важное значение имеют и другие факторы: стадии дифференцировки лимфоцита при его первом контакте со специфическим эпителием; участок организма, где происходит этот контакт; природа клеток, презентирующих эпителии, и число лимфоцитов, реагирующих на данные эпителии.

Интересна история этого открытия. Вскоре после того как была обнаружена специфичность антигенов, стало ясно, что должны существовать какие-то механизмы, предотвращающие образование аутоантигенов. Еще в начале XX столетия П. Эрлих предложил «страх самоуправления», предполагая необходимость существования регулирующего механизма, препятствующего продукции аутоантигенов. В 1938 г. Трауб индуцировал специфическую толерантность, введя эмбрионам мышей вирус лимфоцитарного хориоменингита, вызывающий пожизненную инфекцию. В отличие от нормальных мышей взрослые особи, зараженные *in utero*, не продуцировали нейтрализующих антител при повторном введении вируса. В 1945 г. стало известно об эксперименте, поставленном самой природой, — неидентичных телатах-близнецах, в крови каждого из которых были обнаружены клетки, несущие и «свои», и «не-свои» антигены. Эти телата в эмбриональный период имели общий плацентарный кровоток, в результате чего был возможен обмен гемopoэтическими (стволовыми) клетками. У животных возникла пожизненная толерантность (эритроцитарный мозаицизм): во взрослом состоянии они не давали гуморального ответа на введение эритроцитов партнера по эмбриональному паразитозу. (При отсутствии общего плацентарного кровотока у диизотипных телат-двоен перекрестное введение эритро-

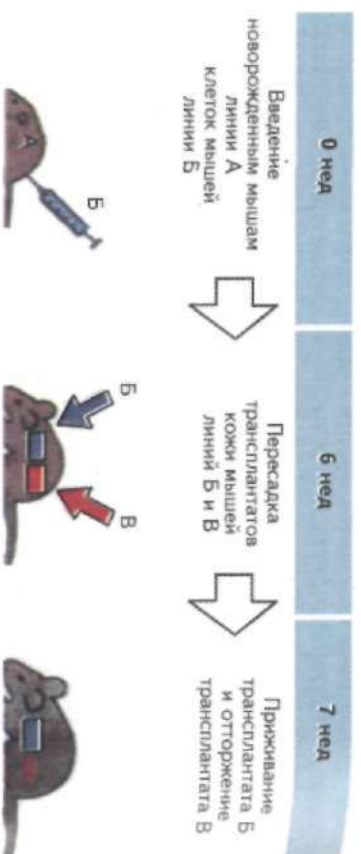


Рис. 66. Индукция специфической толерантности у мышей.

Индукция специфической толерантности к трансплантату кожи у новорожденных мышей, которым вводили клетки селезенки от мышей-доноров разных линий. Мыши линии А в обычных условиях отторгают трансплантат кожи В. Однако, если они при рождении получили инъекцию клеток мышей линии В, то в возрасте 6 нед у них обнаруживается толерантность к коже мышей линии В, а трансплантированная кожа мышей линии В отторгается. Этот феномен обусловлен индуцированным отклонением (см. текст)

цитов взрослым животным вызывает антигенообразование.) Основываясь на этом наблюдении, Ф. Бернет и Г. Феннер постулировали, что решающим фактором в формировании иммунорективности и приобретении способности распознавать чужеродные антигены служит возраст животных в момент первого контакта с антигеном. Такая гипотеза казалась логичной, поскольку с большим количеством собственных антигенов иммунная система сталкивается обычно до рождения и только позднее начинает взаимодействовать с чужеродными антигенами.

Экспериментальное подтверждение этой гипотезы получила в 1953 г., когда П. Мелавар и сотрудники индуцировали у мышей толерантность к аллотенному (т. е. не идентичному, но от животного того же вида) кожному трансплантату путем введения аллогенных клеток новорожденным особям (рис. 66). Подобная толерантность легко объяснима с позиций клонально-селекционной теории Ф. Бернета (1957), согласно которой данный иммунный ответ (в частности, В- или Т-клетка) при участии антигена проходит отбор, после чего делится, давая клон дочерних клеток той же специфичности. Один из постулатов этой теории гласит, что при контакте с теми или иными антигенами после рождения специфичные к ним клоны лимфоцитов активируются, тогда как при контакте до рождения происходит деградация специфичных к данным антигенам клонов (они были названы Ф. Бернетом «запрещенными клонами»). Из теории следует, что весь репертуар специфичностей должен быть создан в эмбриональном периоде, однако в действительности дифференцировка лимфоцитов продол-

жается еще долгое время после рождения. Таким образом, ключевым фактором, определяющим иммунореактивность, является не стадия развития организма, а степень зрелости лимфоцита в тот момент, когда он встречается с антигеном. Такое предположение было высказано в 1959 г. Дж. Ледербергом в его модифицированной трактовке клонально-селекционной теории: незрелые лимфоциты, контактирующие с антигеном, подвергаются клональной деградации, а зрелые активируются.

В настоящее время иммуннокомпетентность новорожденного организма — твердо установленный факт. Индуцировать толерантность к определенным антигенам до рождения удается просто по той причине, что иммунные реакции у новорожденных и взрослых могут быть функционально различными. В связи с этим индукцию толерантности у новорожденных можно рассматривать как один из первых примеров «иммунного отклонения» такого типа. Основными открытиями 1960-х гг. стали иммуннологическая компетентность лимфоцитов, ведущая роль тимуса в развитии иммунной системы и существование двух взаимодействующих субпопуляций лимфоцитов — Т- и В-клеток. Именно эти открытия послужили основой для обширных исследований по выяснению клеточных механизмов «толерогенеза».

**Контрольные вопросы и задания.** 1. Перечислите механизмы регуляции иммунного ответа. 2. Какие молекулы и клетки участвуют в регуляции иммунного ответа? 3. От чего зависит тип иммунного ответа? 4. В чем выражается регуляторное влияние антигенов при иммунном ответе? 5. Назовите компоненты системы нейроэндокринной регуляции иммунного ответа. 6. Назовите виды иммунологической толерантности и ее типы.



## Глава 5 ИММУНОПАТОЛОГИЯ

Повреждения тканей, наблюдаемые при инфекционных заболеваниях, иногда частично или полностью обусловлены действием самих механизмов клеточного иммунитета. К повреждению тканей может привести также иммунный ответ на аутоантигены (аутоиммунитет) (рис. 67). Ниже перечислены известные механизмы иммунопатологии.

**Цитотоксические клетки** могут поражать инфицированные вирусом клетки-мишени собственного организма, весьма важные для его жизнедеятельности, например клетки центральной нервной системы. Если это происходит при иммунном ответе на вирусную инфекцию, которая сама по себе не вызывает гибели или функциональных нарушений зараженных клеток, повреждение тканей относят к иммунопатологии.

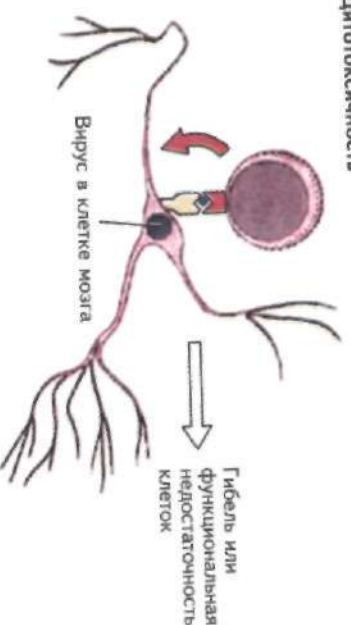
**Хроническое воспаление.** Реакции клеточного иммунитета могут быть направлены против аутоантигенов (либо скрытых инфекций, либо микробов-комменсалов) и в этом случае вызывают хроническое воспаление, разрушающее ткани (как при ревматоидном артрите, болезни Крона, саркоидозе, псориазе и рассеянном склерозе). Часто роль в этом предполагаемых инфекционных агентов и постинфекционных аутоиммунных реакций остается неясной, как, например, в случае разрушения островков Лангерганса поджелудочной железы и возникновения в результате инсулинзависимого диабета.

**Вытеснение гранулемами функциональной ткани.** Занимая в пространстве определенный объем, гранулема может нарушать функцию той или иной ткани организма. Например, образование гра-

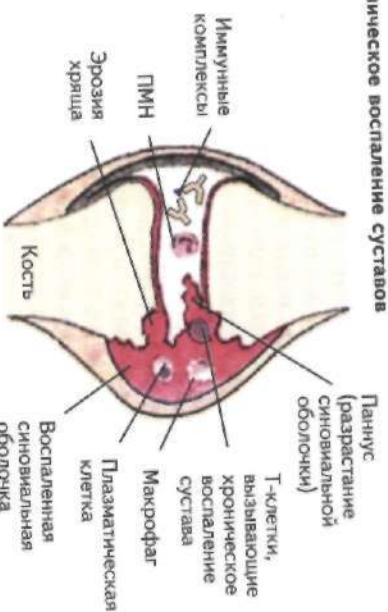
Рис. 67. Механизмы опосредованной клетками иммунопатологии.

1. Цитотоксические клетки могут повреждать жизненно важные клетки собственного организма, инфицированные вирусами (например, нервные клетки в мозге). 2. Иммунный ответ может быть направлен на собственные антигены организма (или, вероятно, на антигены неидентифицированных возбудителей скрытых инфекций либо микробов-комменсалов) и вызывать хроническое воспаление, как это бывает при ревматоидном артрите. 3. Занимая значительный объем в пространстве, гранулема может нарушать функцию чувствительной ткани или нервного ствола. 4. Избыточное выделение цитокинов способно привести к тяжелым синдромам тканевого повреждения, в частности к синдрому токсического шока, вызванного избытком ФНОα.

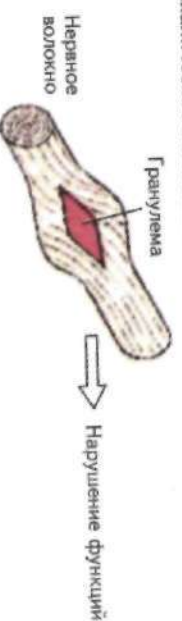
### 1. Цитотоксичность



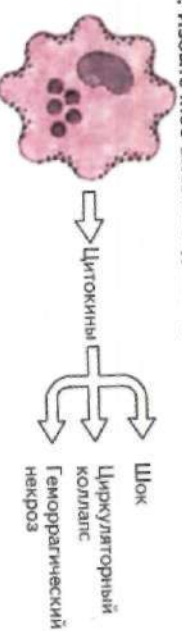
### 2. Хроническое воспаление суставов



### 3. Механическое вытеснение



### 4. Избыточное высвобождение цитокинов



нуды, вызванное присутствием микобактерий — возбудителей лепры, может приводить к повреждению нервов, по ходу которых эти гранулемы возникают. Аналогичным образом функциональные нарушения могут вызывать гранулемы, образовавшиеся в сетчатке глаза или в тканях мозга.

**Избыточное выделение цитокинов.** Ряд патологических синдромов, таких, как токсический шок, геморрагический некроз и реакция Шварцмана, а также локальный некроз при реакциях гиперчувствительности замедленного типа (феномен Коха), обусловлен, по-видимому, избыточным выделением цитокинов (в особенности ФНО $\alpha$ ).

## 5.1. ПЕРВИЧНАЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

• При нарушениях иммунного ответа повышается чувствительность организма к пиогенным грамотрицательным бактериям. Подобные нарушения могут возникнуть вследствие недостаточности функции В-клеток, как это отмечается при сцепленной с Х-хромосомой атакмаглобулинемии. В других случаях причина состоит в том, что В-лимфоциты не получают соответствующих сигналов от Т-лимфоцитов. С этим связано возникновение таких расстройств, как синдром IgM-гипергаммаглобулинемии, общий вариабельный иммунодефицит и транзиторная гипогаммаглобулинемия.

• При недостаточности клеточного иммунитета организм подвержен оппортунистическим инфекциям. Такой тип иммунодефицита обусловлен нарушением функций Т-клеток, как это наблюдается при тяжелом комбинированном иммунодефиците (ТКИД), недостаточности молекул МНС класса II.

• Наследственная патология системы комплемента обнаруживается при ряде клинических синдромов. Наиболее часто ее следствием является недостаточность ингибитора С1, клинически проявляющийся как аутоиммунный отек.

• При наследственной недостаточности терминальных компонентов комплемента (С5, С6, С7 и С8) и белков альтернативного пути активации комплемента (фактора Н, фактора I и пропердина) чрезвычайно повышена чувствительность к инфекциям, вызываемым двумя видами *Neisseria* — *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis*.

• Нарушения механизма восстановления молекулярного кислорода в фагоцитах, а именно сборки молекулы NADPH-оксидазы и образования активных метаболитов кислорода, обладающих бактерицидными свойствами, служат причиной развития хронического гранулематоза. Длительное присутствие бактерий альвеол гранулов в фагоцитах ведет к образованию либо абсцессов, либо гранулем, в зависимости от вида возбудителя.

• Недостаточность адгезии лейкоцитов ассоциирована с персистирующим лейкоцитозом, поскольку лейкоциты крови, несущие

специфические молекулы интертинов, не способны проникать через сосудистый эндотелий в ткани.

Имунодефицитные состояния возникают в результате выпадения или недостаточности функции одного или нескольких элементов иммунной системы. Причинами заболеваний, обусловленных специфической иммунной недостаточностью, служат нарушения функций Т- или В-лимфоцитов — основы приобретенного иммунитета. Неспецифические иммунодефициты связаны с нарушениями в таких элементах иммунной системы, как комплемент и фагоциты, действующих при иммунном ответе неспецифично. Первичные иммунодефицитные состояния обусловлены внутренними дефектами клеток иммунной системы и большей частью генетически детерминированы.

При иммунодефицитном состоянии наблюдается повышенная чувствительность к инфекциям. Наиболее часто возникающие у таких больных инфекции можно разделить на две категории. При нарушениях, связанных с иммуноглобулинами, компонентами комплемента и фагоцитарной активностью, резко возрастает восприимчивость к повторным инфекциям, вызываемым бактериями, которые обладают капсулой, — *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Эти бактерии называют пиогенными, или гнойными, поскольку они вызывают гнойное воспаление. В случаях нарушений системы клеточного иммунитета, т. е. функций Т-клеток, повышается чувствительность к микроорганизмам, широко распространенным во внешней среде и в норме безвредным. У здоровых людей к ним быстро развивается резистентность, но у больных с недостаточностью Т-клеточной функции они способны вызывать генерализованные и даже летальные инфекции. Это так называемые оппортунистические инфекции; их возбудителями могут быть различные микроорганизмы, от дрожжей до обычных вирусов, таких как вирус ветряной оспы.

Больные с общими дефектами В-клеточной функции подвержены рецидивирующим пиогенным инфекциям, таким как пневмония, воспаление среднего уха и синусит. При отсутствии лечения повторные пневмонии могут вызывать тяжелое obstructive заболевание органов дыхания (бронхоэктаз) вследствие разрушения эластических тканей бронхальной стенки.

## 5.2. ВТОРИЧНАЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

• Иммуномодулирующие лекарственные препараты могут сильно подавлять иммунные функции.

• Стероиды влияют на миграцию клеток, индуцируют лейкоцитопению и ингибируют синтез цитокинов.



• Циклофосфан, азатиоприн и микофенолат-мофетил действуют непосредственно на ДНК или ее синтез.

• Бесково-энергетическая недостаточность оказывает выраженное негативное влияние на лимфоидную ткань и клеточный иммунитет.

• Недостаток в пище отдельных микроэлементов, таких, как цинк, селен, медь или железо, а также витаминов А, В<sub>6</sub> и фолатов приводит к ослаблению функции иммунной системы.

• Правильные диета и питание — факторы, позволяющие снизить заболеваемость и смертность от инфекций.

Значительное снижение числа Т-клеток CD4<sup>+</sup>, обусловленное разными причинами, ведет к резкому нарушению клеточного иммунитета и к гибели от оппортунистических инфекций.

**Иммунодефициты, вызываемые лекарственными препаратами.** В последнее десятилетие достигнуты существенные успехи в изучении регуляторных основ иммунитета, а также избирательного влияния на него лекарственных веществ, подавляющих или в некоторых условиях усиливающих иммунный ответ. В настоящем разделе рассматривается действие наиболее важных лекарственных препаратов, обычно используемых для системной иммунодепрессии, в частности стероидов.

Функцию иммунной системы регулируют по меньшей мере четыре основных механизма: гормональный (т. е. опосредованный глюкокортикоидами), питокиновый (с участием интерлейкинов и интерферонов), опосредованный сетевыми взаимодействиями (идиотипические — антиидиотипические реакции) и антигенный.

Глюкокортикоиды являются наиболее сильными естественными модуляторами иммунного ответа, оказывая выраженное влияние на большинство его стадий и компонентов. Помимо прямого гормонального действия на миграцию и функции иммунных клеток стероиды оказывают сильный опосредованный эффект, существенно влияя на синтез питокинов.

Стероидные препараты вызывают резкие изменения в популяционном составе циркулирующих лейкоцитов. Этот эффект отмечается даже при использовании стероидов в низких дозах, например таких, какие применяют для создания их физиологических концентраций у адrenaлэктомированных больных. Характер эффекта зависит от типа клеток (табл. 4).

Применение стероидов приводит к снижению числа циркулирующих лимфоцитов — лимфоцитопении, максимальной через 4...6 ч после введения препарата; через 24 ч содержание этих клеток восстанавливается до нормального. При этом число В-клеток понижается меньше, чем Т-клеток, а среди последних субпопуляция CD4<sup>+</sup> уменьшается в большей степени, чем CD8<sup>+</sup>. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что происходит пере-

4. Изменение числа циркулирующих лейкоцитов в крови (в 1 мм<sup>3</sup>) после введения глюкокортикоида

Тип клеток	Время после инъекции, ч		
	0	6	24
Нейтрофилы	4000	10000	4000
Лимфоциты	2000	500	2000
Эозинофилы	400	100	400
Моноциты	300	50	300
Базофилы	100	0	100

Примечание. Препарат вводили однократно в дозе 40 мг/кг.

распределение этих клеток с их миграцией в костный мозг и селезенку.

Кроме того, применение стероидов вызывает моноцитопению, наиболее выраженную через 2 ч после введения препарата; через 24 ч число моноцитов в крови восстанавливается до нормального уровня. Однако в отличие от эффекта, оказываемого на лимфоциты, в данном случае при повторном ежедневном введении стероида содержание моноцитов существенно не меняется.

Лечение стероидами приводит также к возникновению нейтрофилии, частично обусловленной поступлением в кровь зрелых клеток из костного мозга и частично — их задержкой в циркуляции. После введения стероидов одновременно с нейтрофилией наблюдается быстрое и продолжительное понижение числа циркулирующих в крови эозинофилов и базофилов.

### 5.3. КОРМЛЕНИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ

На существование связи между кормлением и устойчивостью к инфекциям указывают исторические сведения о распространении инфекционных заболеваний среди животных, обеспеченных скудным рационом, а также клинические наблюдения и эпизотологические данные. Как правило, иммунные реакции при недостаточном кормлении нарушаются. Наиболее всего этот фактор влияет на пять форм иммунологической реактивности: клеточный иммунитет, фагоцитарную функцию, активность системы комплемента, секрецию антител и синтез питокинов. По данным мировой статистики, истощение — это самая частая причина иммунодефицитных состояний.

Недостаточность кормления наиболее широко распространена в экономически неблагополучных странах. Кроме того, во многих случаях дефицит кормления возникает как следствие разнообраз-

ных системных нарушений: опухолевых заболеваний, хронических почечных расстройств, ожогов, множественных травм, хронических инфекций.

**Недостаточность кормления и инфекция.** Недостаточность кормления обычно утяжеляет течение инфекций, и наоборот, инфекционное заболевание усиливает расстройство, вызванные недостатком питания. Однако такая зависимость наблюдается не при всех инфекциях; на клиническое течение и конечный исход пневмонии, диареи и туберкулеза дефицит питания действует благоприятно; при некоторых инфекционных заболеваниях (например, столбняке и вирусном энцефалите) эффект недостаточности кормления минимален, а при таких, как грипп, характер питания оказывает лишь умеренное влияние.

Существует множество факторов, predisпонирующих к развитию инфекций при недостаточном кормлении. К ним относятся плохие санитарные условия, употребление загрязненных корма и воды, отсутствие гигиенических условий.

**Лимфоидные ткани.** Лимфоидные ткани чрезвычайно чувствительны к отрицательным эффектам недостаточности кормления. Масштаб и степень нарушения иммунных функций, возникающего при дефиците питательных веществ, зависят от ряда факторов, в том числе от скорости клеточной пролиферации, интенсивности синтеза белка и значения отдельных элементов, играющих в основных метаболических процессах. Для функционирования многих ферментов, играющих ключевую роль в иммунных реакциях, необходимо поступление в организм цинка, железа, витамина В<sub>6</sub> и других микроэлементов и витаминов.

Выраженный признак недостаточности кормления — это атрофия лимфоидной ткани. У новорожденных чувствительным «барометром», отражающим характер кормления, является тимус, и явное снижение массы и объема этого органа у истощенных в результате плохого кормления больных получило название «кормовой тимэктомии». При гистологическом исследовании такого тимуса обнаруживается нарушение дольчатого строения, исчезновение границы между корковой и мозговой зонами, уменьшение содержания лимфоидных клеток. Тельца Гассала при этом увеличены и находятся в состоянии дегенерации, некоторые из них кальцифицированы. Атрофия захватывает тимусзависимые периапериолярные районы селезенки, а также паракортикальную область лимфатических узлов.

**Белковая недостаточность (БН).** Умеренная или тяжелая БН сопровождается значительным угнетением клеточного иммунитета, на которое указывают снижение числа Т-хелперов CD4<sup>+</sup> и уменьшение соотношения клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. Эксперименты по совместному культивированию показывают, что при этом В-лимфоциты не получают достаточной Т-клеточной «помощи». Отмечено снижение способности лимфоцитов

отвечать пролиферацией на митоген. Состояние незрелости циркулирующих Т-клеток выражается в повышенной активности лейкоцитарной дезоксиингулеитилинтрансферазы. В основе изменений числа и функций Т-клеток может лежать снижение активности тимуллина. При иммунизации обычно применяемыми вакцинами наблюдается недостаточно высокая продукция секреторных антител IgA — возможная причина частых инфекционных поражений слизистых оболочек.

В условиях БН страдает фагоцитарная функция. Ослаблен процесс опсонизации, в основном в результате снижения уровня различных компонентов комплекса — С3, С5 и фактора В.

Поглощение микроорганизмов фагоцитами не изменяется, тогда как способность фагоцитарных клеток разрушать захваченные микробы нарушена. Снижена также продукция некоторых цитокинов, в частности ИЛ-2 и ФНО.

Кроме того, БН сопровождается изменением некоторых показателей врожденного иммунитета, в том числе незначительным уменьшением образования лизоцима. При недостаточности кормления данного вида большее число бактерий связывается с эпителиальными клетками, что ухудшает заживление ран. Относительно качества и количества продуцируемой при БН слизи сведения крайне мало.

**Отдельные элементы кормления.** Хорошо изучено заметное влияние, которое оказывает на иммунный ответ недостаток *инвалида*. Оно состоит в ослаблении кожных реакций гиперчувствительности замедленного типа, снижении соотношения клеток CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, нарушении функций Т-клеток. Острым и патогномичным признаком недостаточности цинка является уменьшение активности сывороточного тимуллина — нонаполипептида, содержащие цинк.

**Железо** представляет собой, образно говоря, обоюдоострое оружие: оно необходимо для роста большинства микроорганизмов и наряду с этим для активности железозависимых ферментов, обеспечивающих функции лимфоцитов и фагоцитов. Поэтому дефицит железа в целом ведет к уменьшению способности нейтрофилов уничтожать бактерии и грибы, к снижению активности лимфоцитов на митогены и нарушению активности НК-клеток.

**Селен и медь** также играют роль в осуществлении иммунного ответа. По новейшим данным, вирусы могут мутировать и изменять свою вирулентность при инфицировании животных, в питании которых имеется дефицит этих элементов. Вирус Коксаки, выделенный от мышей с дефицитом селена, вызывал сильное поражение миокарда; по сравнению с вирусом введенного мышам исходного, вирулентного штамма, вирулентный вирус от дефицитных по селену мышей имел шесть нуклеотидных замещений.



Недостаток *витамина А* неблагоприятно отражается на структуре эпителия, приводя к метаплазии клеток и повышению связыванию бактерий. Уменьшается число некоторых субпопуляций лимфоцитов и снижается их реакция на митоген.

Недостаток *витамина В<sub>6</sub>* и *фолатов* вызывает нарушения клеточного иммунитета, в особенности пролиферативной реакции лимфоцитов.

**Ожирение и избыточное питание.** У тучных животных наблюдаются изменения различных типов иммунореактивности, включая цитотоксичность, активность НК-клеток и способность фагоцитоз лизировать поглощенные бактерии и грибы. Причиной нарушения иммунного статуса может быть изменение содержания в организме отдельных микроэлементов, липидов и гормонов.

Некоторые питательные вещества при умеренно избыточном поступлении с пищей обуславливают усиление ряда иммунных реакций, в частности клеточного иммунитета. К таким элементам питания относятся витамины А и Е, цинк и селен. Однако для большинства питательных веществ существует верхний предел потребления, превышение которого ведет к нарушению иммунных функций.

**Клиническое значение питания.** В настоящее время открыты новые возможности предупреждения первичных и вторичных инфекций у животных из групп повышенного риска при помощи соответствующего режима кормления. В клинических условиях пациенты в состоянии истощения подвергнутся риску возникновения оппортунистических инфекций. Усиленное кормление в этом случае повышает иммунитет и снижает вероятность таких осложнений, как сепсис и плохое заживление ран.

**Контрольные вопросы и задания.** 1. Перечислите основные причины и отличительные особенности первичной и вторичной иммунологической недостаточности. 2. На какие структуры и функции иммунитета влияет неполноценное кормление?

## Глава 6

# ПРИКЛАДНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

## 6.1. ВАКЦИНАЦИЯ

• Неспецифическая иммунизация, например путем введения цитокинов, может применяться, когда целесообразно стимулировать общую иммунореактивность.

• Адьюванты — вещества, усиливающие образование антител, обычно необходимы при иммунизации убитыми вакцинами.

• Технологии рекомбинантных ДНК, по всей вероятности, станут основой для разработки вакцин следующего поколения.

• Вакцинация основана на способности организма формировать приобретенный иммунитет и иммунологическую память в отношении возбудителя.

• В качестве вакцин применяют самые разнообразные антигенные препараты, от целых микробов до просто пептидов и полисахаридов.

• Живые вакцины существенно отличаются от убитых и, как правило, эффективнее их.

• Вакцинация представляет собой форму активной иммунизации.

• Пассивная иммунизация путем непосредственного введения готовых антител еще сохраняет свое значение как средство противинфекционной защиты в определенных обстоятельствах, например при столбняке, когда токсин уже проник в кровоток.

Вакцинация, несомненно, самое известное и наиболее успешное применение иммунологических принципов в ветеринарии. Первая вакцина была названа так по болезни крупного рогатого скота — *vaccinia* (коровья оспа), вызываемой, как выяснилось впоследствии, вирусом. Два столетия назад ее применил английский врач Э. Дженнер. Это стало первой научно продуманной попыткой предотвратить инфекционное заболевание человека (на тулячую оспу), причем автор метода ничего не знал ни о вирусах (или о любых других микробах), ни об иммунитете.

Лишь столетие спустя уже Л. Пастером был сформулирован фундаментальный принцип вакцинации: для создания напряженного иммунитета против высоковирулентных микроорганизмов можно применять препараты из тех же микробов, но с ослабленной путем определенного воздействия вирулентностью. Использо-

зую в соответствии с этим высущенный спинной мозг кролика, зараженного вирусом бешенства, и протертые культуры бацилл сибирской язвы. Пастер создал по сути прототипы современных вакцин. В то же время созданный Джернером вакцина животного происхождения, содержащая вирус коровьей оспы (птерологичная), не получила впоследствии какого-либо продолжения как метод.

Даже Л. Пастер не знал ничего о функции лимфоцитов или сущности иммунологической памяти; их открытие заставило себя ждать еще столетия. Тогда, наконец, с появлением клональной селекционной теории Ф. Бернета (1957) и данных о Т/В-дифференциации лимфоцитов (1965) стал понятен ключевой механизм вакцинации: содержащийся в вакцине антиген должен вызвать клональную экспансию специфических Т- и/или В-лимфоцитов, оставив после себя популяцию клеток иммунологической памяти. При следующей встрече с тем же антигеном именно они способны дать вторичный ответ, который обычно быстрее и эффективнее первичного. Часто первичный ответ слишком слаб, чтобы сдерживать развитие опасной инфекции.

Таким образом, вакцинация приводит к формированию приобретенного иммунитета, а искусство создания вакцин заключается в разработке таких антигенных препаратов, которые безвредны для организма, вызывают нужную форму иммунного ответа и, кроме того, доступны по стоимости.

Благодаря вакцинации достигнуты успехи в предупреждении многих инфекционных заболеваний, но существуют и болезни, для защиты от которых вакцин еще не создано.

**Антигенные препараты, используемые как вакцины.** Выбор типа антигенного препарата для применения в качестве вакцины зависит от многих факторов. В общем, чем больше антигенов данного микроба останется в вакцине, тем лучше, и живые микрорганизмы, как правило, эффективнее убитых. Исключение составляют болезни, патогенез которых определяется действием токсина. В этом случае основой вакцины может служить сам токсин. Еще одно исключение — это вакцины, в которых нужны микробные антигены экспрессируются клетками других микробов, используемых в качестве вектора.

Для приготовления живых вакцин могут использоваться как штаммы дикого типа, так и аттенуированные, или ослабленные, штаммы микробов.

**Живые микрорганизмы штаммов дикого типа** редко используются для производства вакцин. За исключением вируса коровьей оспы, ни один полностью нативный (циркулирующий в природе) микроорганизм не служил когда-либо для приготовления используемых на практике вакцин. Однако известны испытания бычьего и обезьяньего ротавирусов в качестве вакцин для детей. Одно время внимание исследователей привлекала иммунизация микобактериями — возбудителями мышинного туберкулеза как средство

противотуберкулезной защиты. На Ближнем и Среднем Востоке, а также в России для создания иммунитета к кожному лейшманиозу делают прививки живой культуры *Leishmania tropica major*, выделенной от больного с легким течением болезни. Вполне вероятно, что в будущем будет получена еще одна хорошая гетерологичная (как у Джернера) вакцина, но при этом возможны серьезные проблемы, связанные с требованием безвредности.

Наиболее эффективны *живые ослабленные вакцины*. При разработке вакцин самой плодотворной оказалась стратегия ослабления (аттенуации) вирулентности возбудителей, вызывающих болезни, при сохранении нужных антигенов. Первый успех на этом пути был достигнут А. Кальметтом и К. Гереном с одним из штаммов туберкулезных бактерий бычьего вида (*Mycobacterium bovis complex*), который за 13 лет (1908—1921) пересевов превратился в намного менее вирулентную форму, известную теперь как БЦЖ (BCG, bacille Calmette—Guérin) и в некоторой степени эффективно в качестве противотуберкулезной вакцины. По-настоящему удачными оказались работы по аттенуации вирусов. Началом их стало получение путем пассирования в организме мышей и куринных эмбрионах ослабленного штамма 17D вируса желтой лихорадки (1937). В дальнейшем принципиально сходный подход позволил создать вакцины против полиомиелита, кори, эпидемического паротита и краснухи. Об эффективности этих вакцин свидетельствует резкое снижение заболеваемости соответствующими инфекциями на протяжении двух-трех десятилетий.

Установлено, что аттенуация может быть результатом мутаций. В чем суть изменений, приводящих к аттенуации? Впервые ослабленные микробы были получены в результате серии случайных мутаций, индуцированных неблагоприятными условиями роста; их удалось выделить благодаря постоянной перепроверке и отбору по признаку утраты вирулентности при сохранении исходного антигенного состава. Эта длительная кропотливая работа была остроумно названа «тенетической рулеткой». Когда стало возможным секвенирование вирусных геномов, оказалось, что результаты традиционного способа аттенуации весьма неоднозначны. Один пример этого — различия между вирусами полиомиелита трех типов, входивших в состав живой полиомиелитной вакцины Сейбина. Геном вируса типа 1 содержит 57 мутаций и почти никогда не ревертирует к дикому (вирулентному) типу, в то время как с вакцинными штаммами полиовирусов типов 2 и 3 это происходит часто, поскольку их безвредность зависит всего от двух ключевых мутаций. В некоторых случаях реверсия приводит к вспышкам поствакцинального паралитического полиомиелита. Одна из них, произошедшая в Швеции, стала достаточно убедительным аргументом для службы здравоохранения этой страны, чтобы прекратить применение живой вакцины, заменив ее убитой. Однако в пользу живой вакцины свидетельствует тот факт,



что во многих районах США она в настоящее время вытеснила вирус полиомиелита дикого типа в источниках водоснабжения и несомненно обеспечивает иммунную защиту части никогда не вакцинированного населения — яркий пример «коллективного иммунитета».

С появлением современной технологии получения рекомбинантных ДНК стало очевидным, что как вирусные, так и бактериальные аттенуированные вакцины должны создаваться на основе направленно точечных, а не случайных мутаций.

Убитые вакцины — это сохранившие нативность антигенов, но нежизнеспособные микроорганизмы. Эти вакцины создают по принципу упомянутых выше убитых вакцин Пастера. Некоторые эффективны же других невысокой (сальмонеллезная и гриппозная вакцины) или спорна (чумная вакцина). Применение некоторых вакцин встречается возражения из-за их токсичности (цельно-клеточная коклюшная вакцина). Можно надеяться, что некоторые из них будут заменены более эффективными вакцинами на основе ослабленных возбудителей, и уже видна определенная перспектива появления такой антирабической вакцины, а также препаратов, полученных методом тенной инженерии.

Наиболее удачные из бактериальных вакцин — *инактивированные токсины и адитоксины*. Самыми эффективными среди всех бактериальных вакцин считаются столбнячная и дифтерийная (табл. 5). Тот же принцип может, как оказалось, быть использован для приготовления вакцин и против ряда других инфекционных болезней.

5. Вакцины, приготовленные на основе токсинов

Микроорганизм	Вакцина	Комментарий
<i>Clostridium tetani</i>	Токсин, инактивированный формальдегидом	Три инъекции анатоксина, адсорбированного на теле гидроксида алюминия; ревакцинация каждые 10 лет. Обычно вводят вместе со столбнячным анатоксином
<i>Clostridium perfringens</i>	То же	Иммунизируют новорожденных агнит

Примечание. В список не включены препараты против многочисленных экзотоксигенов стафилококков и стрептококков, а также против бактериальных энтеротоксинов, подобных липополисахаридам.

Столбнячный анатоксин может служить «носителем» в составе других вакцин. Столбнячный анатоксин кроме применения в качестве вакцин против столбняка используется еще и как «носитель» в вакцинах, состоящих из коротких пептидов, которые иначе лишены иммуногенности. Такой способ эффективен благодаря

тому, что население в большинстве вакцинировано против столбняка и обладает Т-клетками иммунологической памяти, распознающими токсин. Однако целесообразно использовать в качестве носителя белок того же микроба, против которого направлена конструируемая вакцина (в частности, пневмококковая, малярийная и т. д.).

Безвредными и эффективными вакцинами служат *поверхностные антигены* и фрагменты микробных клеток.

Иммунная система (главным образом В-клетки и антитела) распознает прежде всего поверхностные антигены большинства микроорганизмов и отвечает на них. Они и служат безвредной и эффективной вакциной в тех случаях, когда вторичное образование антител способно сдерживать инфекцию. Наиболее удачными оказались вакцины против инкапсулированных бактерий, капсульные полисахариды которых удается получить в препаративных количествах, и против вируса гепатита В, обладающего необычным свойством сверхсинтеза поверхностного антигена (НВs).

*Низкомолекулярные антигены* можно получать путем химического синтеза или молекулярного клонирования. Если установлено, что защиту обеспечивает небольшой пептид (нечастый случай), удобнее, возможно, получать его путем синтеза или клонирования в подходящем векторе экспрессии. Пример успешной реализации этого подхода — получение НВs-антигена, клонированного в клетках дрожжей. Изготовленная таким способом вакцина вытеснила теперь НВs-вакцину первого поколения, которую приходилось готовить трудоемким методом выделения НВs-антигена из крови носителей вируса и последующей очистки; при новом способе снизилась и стоимость вакцины.

Привлекательность молекулярного клонирования заключается и в том, что в продукт можно ввести дополнительные последовательности, например необходимые В- и Т-клеточные эпитопы, скомбинированные различным образом для оптимизации иммунного ответа. Т-лимфоциты распознают линейные аминокислотные последовательности, тогда как В-лимфоциты отвечают на трехмерную конфигурацию эпитопов антигена. Поэтому пептиды хорошо функционируют в качестве Т-клеточных эпитопов, но не способны имитировать структурированные В-клеточные эпитопы. Даже в том случае, если В-клеточная детерминанта имеет линейную конфигурацию, антигена, полученные с свободному гибкому пептиду, не связываются с ним так же оптимально, как с идентичной последовательностью в составе нативного белка, где она имеет более жесткую структуру.

Вакцины будущего — это микробные гены в комбинации с векторами для экспрессии антигена *in situ*.

Дальнейшее развитие подхода с применением клонирования генов предполагает введение нужного гена в такой вектор, кото-

рый способен после инъекции в организм обеспечивать репликацию и экспрессию с образованием большого количества антигена *in situ*. Ранее на роль вектора выделяли вирус коровьей оспы (не смотря на изредка проявляемую им токсичность), однако его использование препятствует то, что многие люди уже привиты против оспы и у них этот вирус будет слишком быстро выводиться из организма. В качестве альтернативы предлагались почти все из имеющихся аттенуированных вирусных вакцин.

Другой подход к созданию вакцин заключается в использовании в роли векторов аттенуированных бактерий, и естественным кандидатом на нее представляется вакцина БЦЖ, поскольку в нем микобактерий, по расчетам, достаточно велик для включения генов любых других микробов, из которых необходимо создать вакцину. Иместся также ряд мутантных штаммов сальмонелл, способных при пероральном введении проиммунизировать лимфоидную ткань кишечника, прежде чем будут элиминированы. Эти бактерии идеально подходят как векторная вакцина для ин-ча, если учесть, что диарейные заболевания составляют главную причину смертности среди молодика на земном шаре. Еще одно преимущество аттенуированных микроорганизмов как векторов заключается в том, что их могут поглощать макрофаги, вызывая в результате системный иммунный ответ вследствие миграции в другие части тела.

Самым новым направлением в этой области стала разработка метода вакцинирования чистой ДНК, в последовательность оснований которой включен подходящий промотор. Поразительным образом такая вакцина создает превосходный иммунитет, как ту-ти, которую можно было бы ожидать в случае потенциально не-ограниченного источника чужеродного антигена. Это направле-ние, привлекающее огромный интерес, быстро развивается, и уже вскоре можно ожидать результатов испытаний «ДНКовой» грип-позной вакцины.

Когда нативный антиген непригоден для иммунизации, можно использовать *антиидиотипические вакцины*. Это единственный тип вакцин, созданный исключительно на основе теоретических представлений. Идея состоит в получении большого количества антиидиотипических моноклональных антител (анти-Id) против V-области (идиотипа) иммуноглобулина, заведомо обладающего защитной активностью. Отобранные соответствующим образом антитела анти-Id будут по пространственной конфигурации по-добны эпитолам исходного иммунизирующего антигена и пригод-ны для использования с целью активной иммунизации вместо него. Такая стратегия, хотя и воспринимается нередко скептиче-ски, как плод «умозрительной иммунологии», все же может ока-заться действительно эффективной в тех случаях, когда сам по

себе нативный антиген непригоден, т. е. не обладает иммуноген-ностью, как, например, некоторые бактериальные полисахариды или липид А из бактериального эндотоксина (липидополисахарида, ЛПС). При этом моноклональные антитела имеют то преимуще-ство, что они как белки должны индуцировать иммунологическую память, которой полисахариды и липиды обычно не вызывают.

### 6.1.1. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИН

Официально допущенная к применению вакцина должна быть безусловно эффективной, причем эффективность всех применяе-мых на практике вакцин периодически перепроверяется. Дей-ствительность вакцин определяется многими факторами. Чтобы считаться эффективной, вакцина должна обладать следующими свойствами:

*индуцировать нужную форму иммунного ответа*; например, вы-зывать образование антител к токсинам и внеклеточным микро-бам, таким, как *Streptococcus pneumoniae*, или формирование кле-точного иммунитета к внутриклеточно размножающимся возбу-дителям, таким, как туберкулезные микобактерии. Когда опти-мальный тип ответа неизвестен (как при малярии), сконструировать эффективную вакцину гораздо труднее;

*быть стабильной при хранении*; это особенно важно для живых вакцин, которые постоянно, на всем пути от производства до ка-бинета врача, должны находиться при низкой температуре, что не всегда легко достижимо;

*обладать достаточной иммуногенностью*; в случае убитых вак-цин ее нередко требуется повышать, применяя адъювант.

**Эффективность вакцин.** Живые вакцины обычно эффективнее убитых. Чтобы вызвать иммунитет необходимой напряженности, антиген должен обладать определенными свойствами. Преимуще-ство живых вакцин по сравнению с убитыми состоит в том, что они обеспечивают нарастающее антигенное воздействие, которое длится сутки или недели, и создают иммунитет именно в том уча-стке, где он необходим. На практике это особенно важно для фор-мирования иммунитета слизистых оболочек. По-видимому, жи-вые вакцины содержат наибольшее число различных микробных антигенов. Недостатками убитых вакцин могут быть также две следующие особенности вызываемого ими иммунного ответа: не-зависимость от Т-клеток и рестрикция по антигенам главного комплекса гистосовместимости (МНС). Типичные Т-независи-мые антигены — это полисахариды; они не связываются с молеку-лами МНС и поэтому не вызывают в ответ Т-лимфоциты. Для индукции Т-клеточной иммунологической памяти в современных вакцинах полисахариды конъюгируют либо со стандартным бел-ковым носителем, таким, как столбнячный анатоксин, либо с од-



ним из белков того же микроба, например с белком наружной мембраны пневмококков. Наеморфилус и др. Рестрикция по МНС влияет на ответ против коротких пептидов из 10...20 аминокислотных остатков и проявляется как «генетическая неопределенность» — такие пептиды взаимодействуют только с определенными молекулами МНС. Вероятно, отсутствие ответа из-за МНС-рестрикции — это скорее типотетическая возможность, поскольку большинство предлагаемых вакцин содержит значительно более крупные пептиды. Тем не менее даже наиболее эффективные вакцины часто не обеспечивают стопроцентную иммунизацию; так, после полного курса вакцинации против гепатита В наблюдается отсутствие сероконверсии примерно у 5 % вакцинированных.

**Безвредность вакцин.** Безвредность вакцин, которой вначале не придавали должного значения, теперь становится важнейшим условием их применения. Конечно, безвредность — весьма относительное понятие: небольшая болезненность или отек в месте инъекции и даже умеренная лихорадочная реакция обычно считаются приемлемыми последствиями вакцинации.

Возможны и более серьезные осложнения, зависящие от вакцин или от индивида. Вполне вероятно заражение вакцинными посторонними белками или токсинами и даже живыми вирусами. Вакцина, называемая убитой, может оказаться недостаточно инактивированной, а аттенуированные вакцины способны ревертировать к дикому типу. Вакцинируемый индивид может обладать повышенной чувствительностью к следовой примеси какого-либо зараженного вакцину белка или страдать иммунологической недостаточностью, при которой любые живые вакцины, как правило, противопоказаны.

**Стоимость вакцинации.** Вакцинацию с полной уверенностью можно отнести к экономически наиболее эффективным способам борьбы с инфекционными заболеваниями, однако некоторые вакцины еще слишком дорогостоящи для большинства потребителей. Если учесть, что доходность производства иммунобиологических препаратов гораздо меньше, чем, например, антибиотиков, то нужно быть благодарными каждому еще сохраняющему свое производство изготовителю вакцин.

## 6.1.2. АДЬОВАНТЫ

В 1920-х гг. при разработке гетерологичных сыворотов для терапии инфекционных заболеваний человека было обнаружено, что некоторые вещества, в частности соли алюминия, добавляемые в раствор антигена или эмульгированные в нем, весьма усиливают образование антител, т. е. действуют в качестве адьювантов. (Гидроксид алюминия до сих пор широко используется, например, в вакцинах, содержащих дифтерийный и столбнячный

анатоксины.) Впоследствии, исходя из современных представлений о механизмах активации лимфоцитов и формирования иммунологической памяти, многие исследователи пытались разработать адьюванты с лучшими свойствами, и особенно усиливающие Т-клеточный ответ.

Адьюванты либо удерживают антиген в месте введения, либо индуцируют образование цитокинов. Воздействие адьювантов на иммунный ответ в основном обусловлено, как предполагается, двумя их активностями: способностью удерживать (или даже накапливать) антиген в том месте, где он экспонируется лимфоцитам (эффект «депо»), и способностью вызывать синтез цитокинов, регулирующих лимфоцитарные функции. Соли алюминия действуют, вероятно, главным образом как депо, индуцируя образование мелких гранулем, в которых они задерживаются вместе с адсорбированным антигеном. Адьюванты нового поколения, такие как липосомы и иммуностимулирующие комплексы (ISCOMs), позволяют достичь той же цели, заключенной в них антиген доставляется к антигенпрезентирующим клеткам. Адьюванты бактериального происхождения, такие как клеточные стенки микобактерий, эндотоксин и др., действуют, вероятно, в основном путем стимулирования образования соответствующих цитокинов. Это предположение подтверждается тем фактом, что цитокины действуют как эффективные адьюванты, особенно если связаны непосредственно с антигеном. Применение цитокинов в наибольшей степени целесообразно при вакцинации лиц, страдающих иммунологической недостаточностью, для которых вакцины обычного состава часто не эффективны. Можно также надеяться, что применение цитокинов позволит придавать иммунному ответу нужное направление — например, когда желательно образование только Th1- или только Th2-клеток памяти.

## 6.1.3. ПАССИВНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ

Идея лечить инфекционные заболевания заранее приготовленными препаратами антител, хотя и вытесняемая успехами антибиотикотерапии, все же сохраняет свою ценность в определенных ситуациях. Когда токсины уже проникли в кровоток (например, при дифтерии, столбняке или после укуса змеи), и для их нейтрализации требуется высокий титр специфических антител, жизнь больного удается спасти только введением именно таких препаратов, изготовляемых обычно из плазмы крови гипериммунизированных лошадей, а иногда из сыворотов лиц, перенесших заболевание. Если расположить препараты антител по градиенту удельной активности, то в конце этого ряда окажется нормальный иммуноглобулин — препарат, приготовленный из смеси образцов крови неиммунизированных доноров, но содержащий

тем не менее антитела к возбудителям банальных инфекций в количестве, вполне достаточном для того, чтобы при введении в дозе 100...400 мг IgG обеспечивать в течение месяца иммунную защиту больному, страдающему гипогаммаглобулинемией. При производстве каждой серии этого препарата в одной реакторной загрузке смешивается плазма крови более 1000 доноров, безопасная в отношении вирусов и возбудителей бактериальных инфекций.

Применение специфических моноклональных антител, теоретически привлекательное, на практике еще не имеет преимуществ перед традиционными методами серотерапии. В настоящее время оно осуществляется главным образом в области диагностики инфекционных заболеваний. Но ситуация может измениться, когда станут более доступными (и менее дорогостоящими) моноклональные антитела человека, полученные либо в культуре клеток, либо методами белковой инженерии.

Многие из веществ, используемых в качестве адъювантов в вакцинах, применяются также отдельно для стимуляции общей иммунореактивности (табл. 5). Лучшие результаты дают при этом не традиционные иммуноадьюванты, а цитокины, среди которых наиболее широко используется  $\alpha$ -интерферон (ИФ $\alpha$ ), в основном ввиду его антивирусной, а также и противоопухолевой активности. По-видимому, наиболее выраженный клинический эффект был получен при применении транзюлолитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) для восстановления костномозгового кроветворения после цитотоксической химиотерапии: наблюдалась нормализация свертываемости крови и противонекротической резистентности.

5. Антигеннеспецифическая иммунотерапия

Источник получения препарата	Примечания
Микроbial (фильтраты бактериальных культур ВЛЖ)	Применялся Коули (1909) для лечения больных с опухолью. Проявляет некоторую противоопухолевую активность
Цитокины: ИФ $\alpha$	Эффективен при хронических инфекциях: гепатитах В, С, опоясывающем герпесе, вирусных папилломах; действует профилактически против простуды (а также некоторых опухолей)
ИФ $\gamma$	Эффективен в некоторых случаях хронического гранулематоза, депрессивной депрессии и лейшманиоза (кожного)
ИЛ-2	Эффективен при лейшманиозе (кожная форма)
Г-КСФ	Восстанавливает костномозговое кроветворение после цитотоксической химиотерапии

Продолжение

Источник получения препарата	Примечания
Ингибиторы цитокинов: Антагонисты ФНО Антагонисты ИЛ-1 Антагонисты ИЛ-10	Эффективны при септическом шоке Эффективны при тяжелой (периферической) малярии То же

Примечание. Антигеннеспецифическая стимуляция или подавление активности отдельных компонентов иммунной системы может иногда давать положительный клинический эффект.

Для лечения тяжелых или хронических воспалительных заболеваний предложено также применять ингибиторы цитокиновой активности. Различные подходы к ингибированию фактора некроза опухоли (ФНО) и интерлейкина-1 (ИЛ-1) дали результаты при лечении больных с ревматоидным артритом и (с менее однозначными результатами) септическим шоком, вызванным граммотрицательными бактериями, а также тяжелой формы малярии. Можно надеяться, что в ближайшие несколько лет клиническая фармакология цитокинов и их ингибиторов будет настолько развита, что появится реальная возможность использовать свойства этих коммуникационных молекул иммунной системы так же целенаправленно, как при вакцинации используются свойства лимфоцитов.

Идея использовать неспецифическую стимуляцию иммунной системы, чтобы вызвать отторжение опухолей, впервые была осуществлена Коули почти сто лет назад. Используя фильтраты бактериальных культур, он добился желаемого эффекта, по-видимому, благодаря высвобождению в результате их применения цитокинов, таких, как ФНО и ИФ. Однако попытки получить аналогичные результаты при помощи очищенных цитокинов или стандартных иммуностимуляторов (например, ВЛЖ) оказались успешными только в случаях опухолей некоторых типов. Поэтому современные изыскания в этой области направлены в основном на индукцию антигенспецифического противоопухолевого иммунитета, подобного антимикробному. Надежда добиться положительных результатов опирается на достоверные факты спонтанного отторжения опухолей, которое в некоторых случаях происходит так, как будто опухоли представляли собой аллотрансплантаты.

## 6.2. ПРИНЦИПЫ РЕГИСТРАЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

Разнообразие форм иммунного ответа предопределяет широкий набор методов их регистрации. Однако каждой форме иммунорегулирования соответствует только свой, определенный набор



методов исследования, что важно знать для правильного подбора методов тестирования иммунного состояния организма.

При регистрации антигелообразования необходимо учитывать наличие циркулирующих в крови и лимфе антител; секреторных, или местных, образующихся локально слизистыми покровами антител; антител, содержащихся в клетках-процедентах.

*Сывороточные антитела* представлены преимущественно IgG и IgM, которые, как уже указывалось, взаимодействуют в основном с растворимыми и корпускулярными антигенами соответственно. Следовательно, антитела, ассоциированные с IgG, можно обнаружить при помощи реакций, основанных на феномене преципитации, а связанные с IgM — при помощи реакций, основанных на феномене агглютинации. Антитела, участвующие в формировании феномена преципитации (преципитины) выявляют в реакциях кольцевой преципитации (пробирочная) и преципитации в гелях (пластинчатая). В обоих вариантах индентифицировать реакции должны быть прозрачными, чтобы визуально зарегистрировать образующийся преципитат в виде кольца на границе двух сред при постановке пробирочной РП (реакция преципитации) или в виде линий между лунками с реагентами при постановке реакции диффузионной преципитации (РДП).

Антитела, участвующие в формировании феномена агглютинации (агглютинины), выявляют в реакциях агглютинации — пробирочной, пластинчатой, кольцевой в различных вариантах. Агглютинат обычно хорошо виден глазом в форме бесцветно-серых, трудноразбавляемых при встряхивании комочков. Для выявления агглютининов в молоке реакцию ставят с подкрашенным антигеном.

Для повышения чувствительности серологических (от лат. *serum* — сыворотка) реакций обычно растворимые антигены закрепляют на какой-либо крупной частице, получая искусственный корпускулярный антиген (например, в реакциях латекс-агглютинации или непрямой гематогглютинации), или вводят вторую, индикаторную систему (например, в реакции связывания комплекта).

Во всех этих реакциях уровень антител определяют в титрах, принимая за последний наибольшее разведение сыворотки, обеспечивающее положительный результат реакции.

Для определения *количества антител* в растворимому антигену можно применить метод Гейдельберга или иммунодиффузионный. Первый метод наиболее доступный, основан он на учете прироста белка в преципитате, полученном с определенным количеством антигена в зоне эквивалентных соотношений реагентов.

Если циркулирующие с кровотоком антитела окажутся неполными, применяют тест Кумбса, основанный на использовании антивидовой сыворотки. Последняя объединяет антиген с антигелом в видимые агрегаты, связанные одним функционирующим актив-

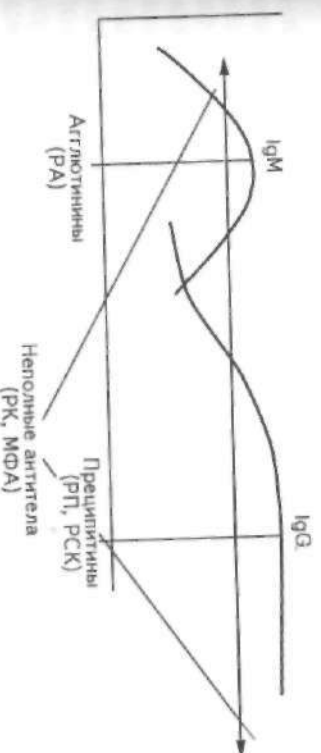


Рис. 68. Принципы серологического тестирования бруцеллезного процесса у рогатого скота

ным центром с антигенами. Таким же образом, но более полно, независимо от класса и полноценности, будет выявлять антитела метод флюоресцирующих антител в непрямом варианте, поскольку в отличие от других серологических реакций он обнаруживает антитела, связанные с фиксированным антигеном. Однако титры антител, выявляемые разными реакциями, не будут совпадать, что в определенной мере зависит и от качества антигена.

На практике нередко для диагностики одной болезни приходится использовать целый набор серологических методов. Особо важно использовать в этом отношении бруцеллез. Для его обнаружения применяют две серологические реакции — РА и РСК. Первой выявляют свежие случаи болезни, второй — развитие инфекционной болезни. В качестве арбитражного метода используют третий тест — реакцию Кумбса, поскольку синтез неполных антител опережает образование полных антител, улавливаемых в РА и РСК. Кроме того, экспериментально доказано совпадение результатов исследования животных на бруцеллез реакциями агглютинации, связывания комплекта, Кумбса (РК) с показателями метода флюоресцирующих антител (МФА) в непрямом варианте. Таким образом, последняя реакция принципиально информативнее всех предыдущих диагностических тестов (рис. 68). Она может регистрировать антитела классов М, G, как полные, так и неполные.

Диагностические серологические тесты не позволяют строго разграничить вакцинальный и эпизоотический процессы у бруцеллезного скота. Их можно дифференцировать при исследовании классов иммуноглобулинов в динамике. Если, скажем, через 1,5...2 мес синтез IgM снизится или заместится синтезом IgG, то это будет характеризовать эпизоотический процесс, связанный с репликацией возбудителя в организме.

Наличие иммуноглобулинов определенного класса важно исследовать и в других случаях. Количество их устанавливают при

помощи методов радиальной иммунодиффузии, а при низкой концентрации — радиоиммунанализа. Метод радиальной иммунодиффузии основан на прямой зависимости диаметра кольца преципитата, который образуют иммуноглобулиновые пробы с антисывороткой, смешанной с гелем. Радиоиммунанализ основан на учете радиоактивного антигена, оставшегося над осадком из-за конкурентного связывания нативного антигена. Последний метод более чувствителен, позволяет определять сверхмалые количества антигена (в пикограммах), но требует специального оборудования и меченых реагентов.

При определении титра секроторных антител к бактериям используют реакцию агглютинации со слезью. Уровень секроторных антител не совпадает с содержанием сывороточных антител и в десятки раз превышает последнее.

Реже обнаруживают антигенопродуцирующие клетки. Их выявляют при помощи меченых антител или антигенов. В первом случае наиболее популярным является сдвиг-тест (от англ. *sandwich* — многослойный), смысл которого сводится к последовательному нанесению на мазок-отпечаток или срез лимфоидной ткани сначала взвеси или раствора соответствующего антигена, а затем гомологичной ему меченой флюорохромом антисыворотки. Светящийся антиген локализуется на клетках, продуцирующих антитела, высвечивая их контуры.

Если нужно обнаружить не антитело, а иммуноглобулинпродуцирующие клетки, используют прямой и непрямой варианты МФА с применением меченой антивидовой сыворотки ко всем глобулинам или к иммуноглобулинам определенного класса. Антитела можно также тестировать *in vitro* в реакциях торможения агглютинации, преципитации, в реакциях лизиса, конглютинации, иммунного прилипания, опсонизации, а *in vivo* — в реакции зашиты.

*Интерувестительность I типа*, протекающую как системная или локальная анафилаксия (атопия), тестируют посредством выявления IgE. Поскольку последний не участвует в обычных серологических реакциях, используют антигенные свойства его М-цепей или цитотропные свойства Fc-фрагмента. Тестирование, основанное на использовании антигенных свойств иммуноглобулина, состоит в применении антивидовых сывороток при помощи методов радиальной иммунодиффузии или более чувствительных иммунорадиоиммунных методов. Из-за низкой концентрации IgE-антител в сыворотке последние более предпочтительны.

Реагиновую активность IgE-антител тестируют путем выявления гомолитотропности Fc-фрагмента молекулы иммуноглобулина с помощью реакции, разработанной Праусницем и Кюстнером (1921). Можно также использовать реакции пассивной кожной анафилаксии (ПКА) на выделенных животных. Этим животным внутривенно вводят испытываемую сыворотку в различных

разведениях, а через 1...2 ч внутривенно инокулируют предпологаемый аллерген с синькой Эванса. Через несколько минут животное убивают и со стороны мездры воспаленного участка кожи утывают диаметр окрашенных пятен, величина которых прямо пропорциональна количеству IgE-антител.

*Интерувестительность II типа*, обусловленную реакциями иммунных комплексов, особенно IgG-антигенами, тестируют также при помощи ПКА-пробы, но на морских свинках. IgG обладает тереоцитотропностью и могут проявлять гиперчувствительность немедленного типа на нетомологичных животных. IgG-реактины можно выявить и в тесте деагглюляции базофилов, но опыт-таки животного другого вида, например кролика.

*Интерувестительность туберкулинового типа (ITT)* тестируют на животных и лабораторными методами. При определении ITT на животных предположительно сенсibilизированным особям вводят внутривенно (предпочтительно), подкожно, наносят на скарифицированную кожу или на слизистую оболочку глаз аллерген. В положительном случае через 12...48 ч на месте аппликации последнего развивается продуктивное воспаление, по степени выраженности которого судят о контакте организма с микробом, томологичным примененному аллергену. Таким образом диагностическим является паратуберкулезный энтерит ротового скота, сап, ринит туберкулеза, паратуберкулезный энтерит ротового скота, сап, мелиоидоз, псевдотуберкулез, туляремия, листериоз, бруцеллез, сальмонеллез и др.

Из лабораторных тестов чаще других используют реакцию бласттрансформации лимфоцитов и реакцию задержки подвижности (миграции) макрофагов. Реакцию трансформации сенсibilизированных лимфоцитов в бласты (большие клетки с сетчатым хроматином в отличие от глыбок хроматина зрелых лимфоцитов) под действием томологичного аллергена можно поставить в пенициллиновых флаконах со средой 199. Если через 3...5 дней культивирования лейкоцитов во флаконах с томологичным аллергеном будет больше лимфобластов, чем во флаконах без аллергена, реакцию считают положительной.

Реакцию миграции макрофагов ставят также в среде 199, которой заливают фиксированные на двух чашках Петри капилляры, запечатанные тщательно отмытыми лейкоцитами предположительно сенсibilизированного животного. В среде с томологичным аллергеном миграция макрофагов из капилляров подавляется соответствующим фактором лимфоцитов; в среде, не содержащей томологичного аллергена, макрофаги выходят и распространяются по дну чашки Петри вокруг выходного отверстия капилляров на гораздо большей площади. Данная реакция является чувствительным и специфичным тестом на ITT и вместе с реакцией бласттрансформации лимфоцитов используется для диагностики туберкулеза.



### 6.3. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Микробные клетки несут на своей поверхности разнообразные антигены, среди которых имеются детерминанты, общие нескольким микроорганизмам или даже идентичные животным клеткам, и уникальные, присущие только данному виду или варианту микробных существ. Токсигенные штаммы обычно содержат эти специфичные детерминанты и в экзопродуктах. Для успешного проведения иммунохимического анализа очень важно получить антисыворотку (т. е. иммунную сыворотку) на максимально чистые специфичные для вида или варианта антигены. Достигается это предварительной дезинтерацией микробных структур, выделением и очисткой необходимых антигенных комплексов, а также путем специфической адсорбции антисыворотки, полученной на взвесь целых микробных клеток к их оболочкам или на раствор экзотоксина. Используются и разведением антисыворотки, чтобы избавиться от неспецифических реакций. Специфичную антисыворотку используют для иммунохимической идентификации антигенов в нативном виде или в виде конъюгатов (антигенов + фермент) с видимыми под обычным световым микроскопом ферментами, обнаруживаемыми под люминесцентным микроскопом флюорохромами или видимыми под электронным микроскопом контрастными веществами.

В ветеринарной практике приходится также анализировать растворимые антигены микроорганизмов. Иммунохимической идентификации обычно подвергают клебсиллы, эшерихии, стафилококки и некоторые другие продуценты экзотоксина, а также органы и ткани животных, инфицированных сибирезавенным микробом. Прием в первом случае экзотоксина накаливают обычно культивированием бактерий на специальных средах, во втором — преципитируют экстракты из тономическим раствором хлорида натрия. В лабораториях чаще идентифицируют взвесь микробных клеток, т. е. корпускулярный антиген.

Иммунологические методы, таким образом, имеют следующие отличительные особенности.

Многие иммунологические методы основаны на *взаимодействии антигена с антителом*; высокая специфичность антигел позволяет идентифицировать, выделить или количественно определять исследуемый антиген.

*Клеточные популяции* можно выявить и идентифицировать по маркерам клеточной поверхности при помощи иммунофлюоресцентных и иммуногистохимических методов.

*Выделение популяции клеток*, несущих определенные поверхностные маркеры, можно осуществить различными методами, включая проточную цитофлюориметрию с использованием клеточного сортера, пэннинг («протравливание» через подложку) и ультрацентрифугирование в градиенте плотности.

Основными показателями функциональной активности лимфоцитов служат продукция антигел или цитокинов, пролиферативная реакция на антиген или цитотоксическая активность.

**Реакция преципитации.** Одним из первых описанных преципитных взаимодействий антиген—антитело было образование преципитата при смешивании обоих реагентов в эквивалентных или близких к эквивалентным количествах. Оно наблюдается при постановке классической реакции преципитации с растворимыми антигенами и антителами (рис. 69).

Если проводить эту реакцию в агаровом геле, можно дифференцировать отдельные реакции антиген—антитело, обусловленные различными популяциями антигел, присутствующими в сыворотке. Такой метод, названный методом двойной иммунодиффузии, применяется также для проверки сходства между различными антигенами (рис. 70).

Однако некоторые смеси антигенов слишком сложны для разделения просто путем диффузии и преципитации, и для анализа таких смесей был разработан метод иммуноэлектрофореза —

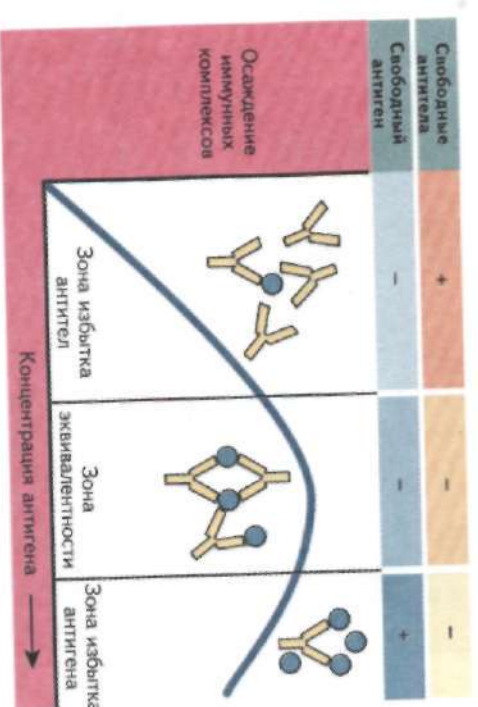


Рис. 69. Реакция преципитации.

Классический пример взаимодействия антиген—антитело *in vitro* — это реакция преципитации. Для ее постановки антиген в возрастающих концентрациях добавляют к раствору антител. Количество осаждающихся иммунных комплексов вначале возрастает, а затем уменьшается. Таким образом, кривая преципитации имеет три зоны. *Зона избытка антител*: количество антигена недостаточно для того, чтобы в реакцию вступили все антитела; в супернатанте определены свободные антитела. *Зона эквивалентности*: количество антигена достаточно для связывания и осаждения всех имеющихся антител; свободные антитела отсутствуют. *Зона избытка антигена*: количество антигена превышает необходимое для связывания всех антител, что ведет к снижению содержания антигел в супернатанте. Это обусловлено образованием комплексов антиген—антитело вследствие избытка антигена. Выпадение этого феномена варьируется в зависимости от типа антигел и вида организма, от кој-



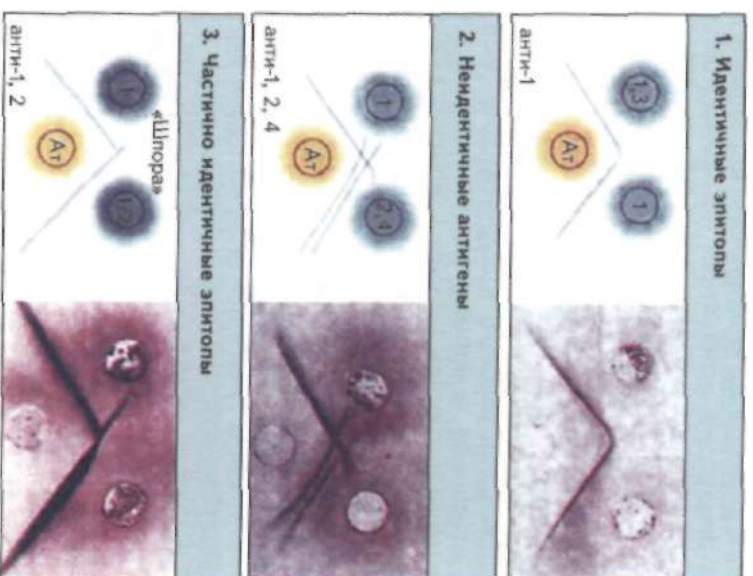


Рис. 70. Реакция преципитации в геле; двойная диффузия.

Для проведения двойной иммунодиффузии авторный гель наливают на предметные стекла, после застывания вырезают в нем лунки и заполняют их исследуемыми растворами антигена (Аг) и антител (Ат). Растворы диффундируют в гель, и на той линии, где происходит взаимодействие Аг и Ат с перекрестным связыванием и осаждением иммунных комплексов, образуется линия (дуга) преципитации. Ее можно наблюдать визуально, если промочить гель (для удаления растворимых белков) и нанести на него краситель, выявляющий белки, например кукурузный синий. Такой метод может быть использован для определения роста между антигенами (синие кружки) и в реакции с данными тест-антигенами (желтый кружок). При этом возможны результаты трех основных типов (цифры в синих кружках обозначают эпитопы антигена). В реакции (1) дуги преципитации, образованные антигенами и двумя исследуемыми антителами, сливаются; это показывает, что антигена взаимодействуют с идентичными эпитопами на двух антигенах (эпитоп 1). Такой результат не означает полную идентичность самих антигенов, он свидетельствует только о том, что данные антигены не выделяют различий между ними. В реакции (2) антигена выделяют 3 разных антигена, которые образуют неслиявшиеся дуги преципитации. В реакции (3) антигены имеют общий эпитоп 1, однако один из них несет еще эпитоп 2. Этот эпитоп отличается от реакции (1) тем, что здесь антигены могут взаимодействовать с антителом 1, образуя линия идентичности, а там, где антителом 2 реагирует с эпитопом 2, формируется «шпора», указывающая на частичную идентичность двух антигенов.

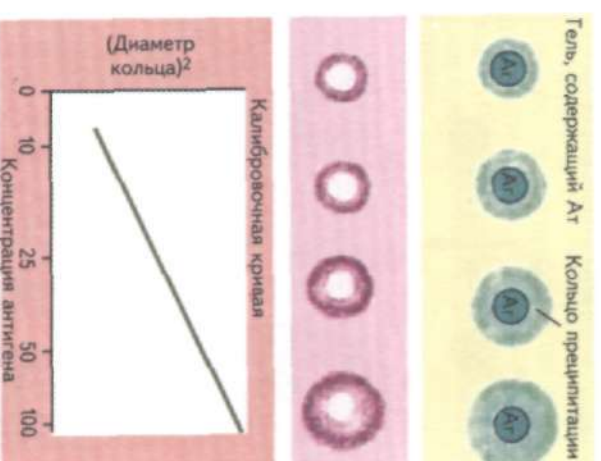


Рис. 71. Простая радиальная иммунодиффузия.

Простая радиальная иммунодиффузия дает возможность количественно определять антигены (Аг). В авторный гель добавляют антигены (Аг), затем наливают его на предметные стекла и оставляют для застывания. В застывшем геле вырезают лунки и вносят в них стандартный объем раствора антигена различной концентрации. Стекла оставляют не менее чем на 24 ч. В течение этого времени антиген диффундирует в гель и образует с антителами растворимые комплексы (при избытке антигена). Комплексы продолжают диффундировать, связывая все больше антигенов, пока не будет достигнута точка эквивалентности и не произойдет осаждение комплексов с образованным кольцом. По радиусу зоны, ограниченной кольцом преципитации, определяют ее площадь. Величина площади пропорциональна концентрации антигена, которую вычисляют при помощи калибровочной кривой (*средики кривой*). Для определения концентрации антигенов применяют тот же метод, но в обратной постановке, т. е. в гель добавляют антиген, а антитела вносят в лунки.

Прежде чем выявлять антигены визуально в реакции преципитации, их разделяют по заряду с помощью этого метода.

Методы, основанные на диффузии в геле, позволяют определять антигены и антитела лишь качественно, количественную же оценку ку реагирующих компонентов проводят разработанным позднее методом простой радиальной иммунодиффузии (рис. 71).

Иммунодиффузия в электрическом поле можно производить с одновременным встречным движением антигенов и антител; этот способ назван встречным электрофорезом. Аналогичная модификация простой радиальной иммунодиффузии получила название встречного электрофореза (рис. 72).

Описанные методы используются для определения антигенов и антител в концентрации от 20 мкг/мл до 2 мг/мл.







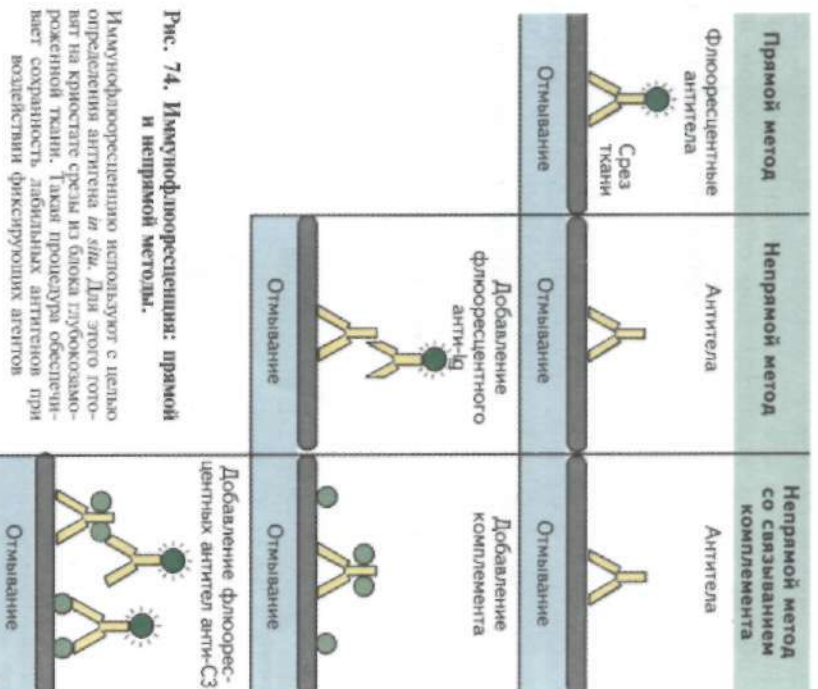


Рис. 74. Иммунофлуоресценция: прямой и непрямой методы.

Иммунофлуоресценцию используют с целью определения антигена *in situ*. Для этого готовят на криостате срезы из блока замороженной ткани. Такая процедура обеспечивает сохранность лабильных антигенов при воздействии фиксирующих агентов.

тител и антител к тканевым и клеточным антигенам (рис. 74). Хотя эти методы технически более сложные, чем описанные выше, они имеют явное преимущество в тех случаях, когда требуется определить число видов антител. Используя срезы тканей (содержащих большое число антител), на одном предметном стекле можно выявить антитела к нескольким разным антигенам, установив при этом их внутриклеточное (клеточное) или внутриклеточное распределение.

Кроме того, с помощью иммунофлуоресцентных тестов можно идентифицировать отдельные клетки в клеточной суспензии, т. е. выявлять антитела на поверхности живых клеток. Для этой цели успешно живых клеток, окрашенных специфичными флуоресцентными реагентами, пропускают через проточный флуоресцентный клеточный сортер — прибор, измеряющий интенсивность свечения каждой клетки в разных областях спектра и затем разделяющий клетки по параметрам свечения. Данный метод

позволяет выделять различные клеточные популяции, т. е. разделять клетки, несущие специфические поверхностные антигены и соответственно этому окрашенные различными флуоресцентно-мечеными антителами.

**Иммунологический анализ антигенов и антител при помощи меченых реагентов.** Методы этой категории отличаются очень высокой чувствительностью и экономичностью в расходе реагентов (рис. 75).

Наиболее распространенный из всех иммунологических методов — это, вероятно, иммуносорбентный анализ антител с применением лигандов, меченных радиоизотопами или ферментами (ELISA, рис. 76); он позволяет исследовать большое число образцов в относительно короткое время. (Вместо радиоактивных меченых теперь все чаще применяют флуоресцентные или хемилюминесцентные маркеры.) Количество антигена можно измерять при помощи метода «двойной антимарки» или конкурентного иммуноанализа с применением любого маркера для определения.

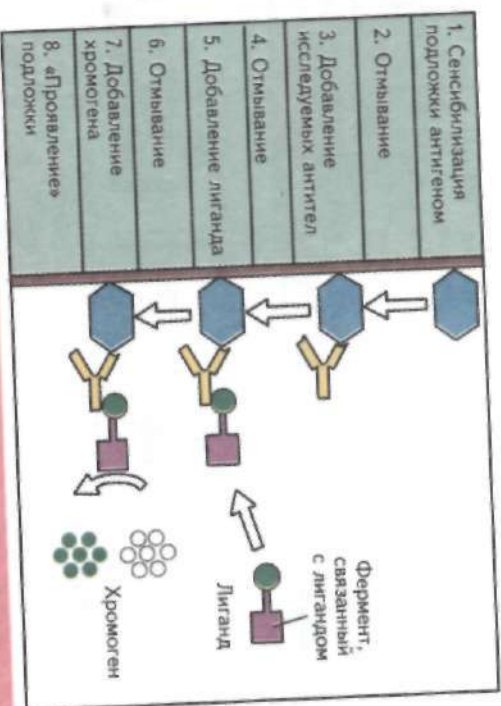
**Иммуноблоттинг и иммунопреципитация.** Описанные выше методы обычно применяют для определения уровня конкретных известных антигенов и антител, однако часто необходимо идентифицировать и охарактеризовать неизвестные заранее антигены, содержащиеся в многокомпонентной смеси. Для этой цели особенно подходит иммуноблоттинг.

При проведении иммуноблоттинга сложную смесь антигенов вначале подвергают гель-электрофорезу, а затем фракционированные пептиды переносят на лист нитроцеллюлозы (блот) для идентификации индивидуальных антигенов при помощи специфических антитисывороток. Производя предварительное разделение в геле с додецилсульфатом натрия или в геле для изоэлектрического фокусирования, можно получить данные о размерах и изоэлектрической точке исследуемых антигенов, а также о сходстве (родстве) между ними (рис. 77).

В некоторых случаях в результате электрофореза в геле и процедуры блоттинга антиген денатурирует так, что некоторые из его эпитопов разрушаются и теряют способность связываться со специфическими антителами. В такой ситуации вместо блоттинга следует использовать иммунопреципитацию, чтобы установить, какой антиген связывает антитело. Данный метод может быть применен для определения как растворимых, так и мембранных антигенов.

**Определение комплемента.** Наиболее простой способ измерения активности комплемента состоит в определении концентрации эритроцитов, вызывающей гемолиз 50 % клеток в стандартном реагенте эритроцитов, сенсibilизированных антигеном (ЭСА). Для проведения этой процедуры в пробирках или на микропланшетах. Для проведения этой процедуры в пробирках или на микропланшетах. Для проведения этой процедуры в пробирках или на микропланшетах.





Сигнал

Фоновый уровень

Линейная область

Плато

Концентрация исследуемых антигенов

Исследуемые сыворотки

Величина, обратная разведению сыворотки

2 4 8 16 32 64 128 256 512 1024

Положит. Отрицат.



Планшет (подложку) для проведения ELISA готовят точно так же, как для иммобилизации антител (см. рис. 75) до этапа 4. В этой системе лигандом служат молекулы, способные выдвигать антитела и ковалентно связанные с ферментом, например пероксидазой. Лиганды соединяются с тестируемыми антигенами, и после предварительного удаления несвязавшихся лигандов отмытием (6) связанный лиганд можно визуализировать путем добавления фермента, преобладающего в данном субстрате, который под влиянием связанного с лигандом фермента преобразуется в окрашенный продукт реакции. Виску — фотография «окрашенного» планшета (8). Количество окрашенного продукта пропорционально содержанию окрашенного продукта реакции путем сканирования оптической плотности.

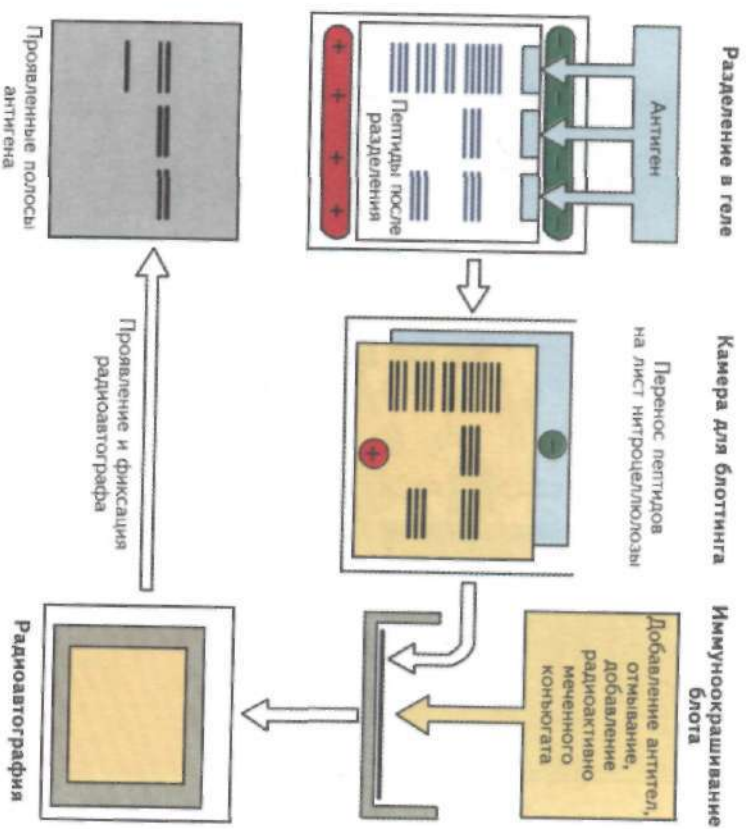


Рис. 77. Иммуноблоттинг.

Для проведения иммуноблоттинга исследуемые антигены сначала разделяют методом электрофореза в геле, например в полиакриламидном геле с локализующим натрий или в геле на лист нитроцеллюлозы (блот), помещенный в специальную камеру. Затем блоты обрабатывают антигенами к специфическому антигену, отмывают и добавляют радиоактивно меченый реагент для определения связавшихся с антигеном антигенов. Принцип подобен тому, который используется в РИА или ELISA. После повторного отмывания лист нитроцеллюлозы помещают в кассету с рентгеновской пленкой для радиоавтографии; на проявленной пленке видны полосы локализации антигена, связавшего меченые антитела. Метод можно модифицировать, используя хемилюминесцентную метку или конъюгат антигена с ферментом (как в ELISA), выявляющий связанный материал при нанесении непосредственно на нитроцеллюлозный лист вместе с хромогенном

стой радикальный гемоллиз. Этот метод сходен с простой радикальной иммунодиффузией, за исключением того, что в лунки вносят исследуемую сыворотку, а гель содержит ЭСА. Вокруг лунок, содержащей активной компонент, образуется зона гемолиза, величина которой пропорциональна количеству компонента в исследуемой сыворотке. Данный метод позволяет определять общую активность компонентов классического и лектинового (см. с. 76) путей активации (C1—C9), однако если в сыворотке обнаружен

дефицит компонента, этим методом невозможно установить, отсутствует ли какой-либо компонент для определения различных отдельных компонентов компонента по их содержанию или функциональной активности. Это важное различие, так как компонент может присутствовать в нормальном количестве, но быть функционально не активным. Содержание (уровень) индивидуальных белков компонента обычно определяют при помощи радиоиммунанализа (РИА) или ферментного иммуносорбентного анализа (ELISA), используя антигены, специфичные к данному белку.

Для измерения функциональной активности в суспензию сенсibilизированных эритроцитов вносят все компоненты компонента, необходимые для лизиса, за исключением исследуемого белка.

**Получение чистых антигенов.** В иммунологических исследованиях часто возникает необходимость в получении очищенных препаратов антигенов, т. е. антигенспецифических либо неспецифических иммуноглобулинов. Выделение неспецифических иммуноглобулинов из сыворотки обычно проводят путем последовательного фракционирования белков, которое включает следующие этапы: осаждение гамма-глобулинов в 30...50%-ном растворе сульфата аммония;

гель-фильтрация для получения молекул соответствующих размеров;

ионообменная хроматография с целью выделения молекул, несущих суммарный положительный заряд при нейтральном pH; аффинная хроматография с использованием естественных лигандов иммуноглобулинов, например стафилококкового белка А (компонент клеточной стенки стафилококков, связывающийся с областью C<sub>γ</sub>2 и C<sub>γ</sub>3 большинства подклассов IgG, т. е. IgG1, IgG2 и IgG3).

Выделение антигенспецифических иммуноглобулинов осуществляют методом аффинной хроматографии. Антиген «пришивают» к частицам сефарозы и связавшиеся с ним «чистые» антитела элюируют с иммуносорбента хаотропными агентами (например, тиоцианатом натрия) или буферным раствором (глицин—НСI или диглицина). Метод аффинной хроматографии применяют и для получения очищенных препаратов антигенов.

**Получение моноклональных антител.** Другим способом получения индивидуальных антител определенной специфичности служит гибридомная технология — создание импортизированной (бессмертной) линии клеток, продуцирующих антитела только одной специфичности, т. е. моноклональные (рис. 78). В такой культуре можно поддерживать антигенообразование неопределенно долгое время. Моноклональные антитела несравнимо лучше соответствую целым иммуноанализам, чем гетерогенные сыворотки, получаемые от иммунных животных, и поэтому нашли широкое



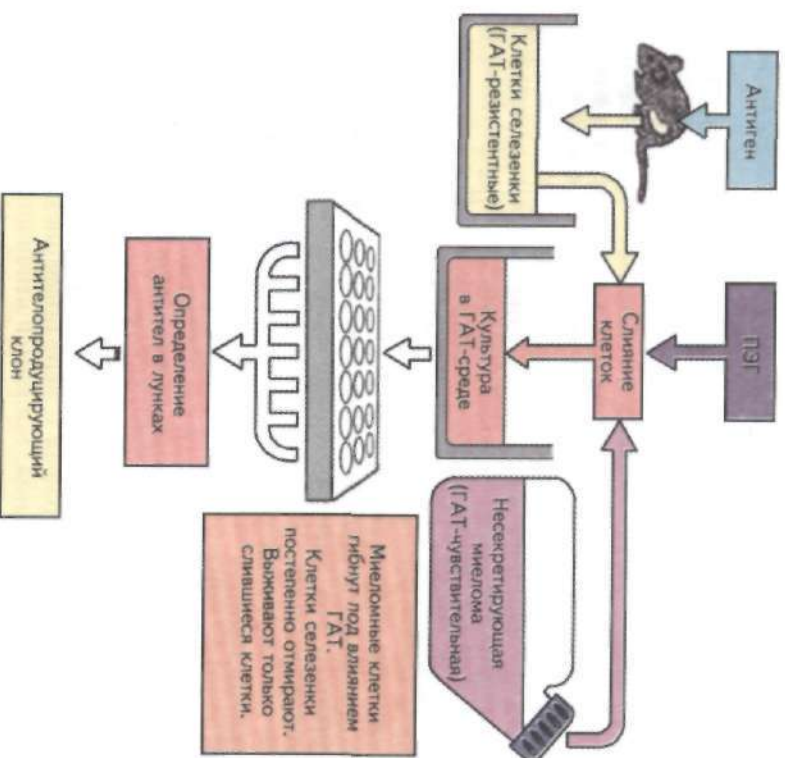


Рис. 78. Получение моноклональных антител.

Животных (обычно мышей или крыс) иммунизируют антигеном. Когда продукция антител достигает высокого уровня, из селезенки животных (могут быть использованы и лимфатические узлы) готовят суспензию клеток. Затем выделяют слияние спленоцитов с клетками миеломной линии, применяя для этой цели полиэтиленгликоль (PEG) — агент, способствующий слиянию клеточных мембран. Процесс проходит успешно лишь у небольшого числа клеток. Клеточную смесь, содержащую слившиеся клетки, культивируют в ГАТ-среде, содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин. Аминоптерин является высокоотоксичным агентом, блокирующим один из метаболитических путей — синтеза пуринов. Клетки могут использовать обходной метаболитический путь, если в среде присутствуют его метаболиты — гипоксантин и тимидин. Спленоциты способны расти в ГАТ-среде, однако миеломные клетки в ней погибают, так как имеют метаболитический дефект, не позволяющий использовать обходной путь синтеза пуринов. Клеточная суспензия, выходящая в ГАТ-среду, содержит спленоциты, клетки миеломы и слившиеся клетки. Спленоциты погибают в культуре естественным путем через 1...2 нед, клетки миеломы не выживают в ГАТ, слившиеся же клетки сохраняют жизнеспособность, поскольку сочетают свойства «бессмертной» миеломы и клеток селезенки, использующих обходной метаболитический путь. Некоторые из слившихся клеток сохраняют также способность продуцировать антитела, как исходные спленоциты. Культивируемую среду из всех двух планшетов, где зарегистрирован рост клеток, исследуют на присутствие антител: желаящей специфичности (часто при помощи иммуносорбентного анализа). Культуры, продуцирующие антитела, клонируют, развивая клеточную линию при посеве в таких расщепках, чтобы на каждую лунку приходилось только одна клетка. Эта клетка-предшественница дает начало формированию «бессмертного» клона, продуцирующего моноклональные антитела.

применение в различных областях биологии в качестве высоко-специфичных зондов.

Эффективно продуцировать моноклональные антитела могут любые В-клетки, необходимо лишь сделать их для этого бессмертными и пролиферирующими. Чаше всего для этой цели получают гибридные клетки — путем слияния мышиных спленоцитов с миеломными В-клетками от мышей той же линии, не секретирующими собственными антителами. Возможно также получить межвидные или межвидовые гибриды, однако они часто нестабильны. Другой метод иммортализации — это трансформация клеток, например в случае В-клеток человека путем инфицирования вирусом Эпштейна—Барр.

Разработан также новый метод получения антител, основанный на использовании бактериофагов. При помощи этого интересного метода удается получить экспрессию на поверхности нитевидного бактериофага M13 вариабельных областей ( $V_H$  и  $V_L$ ) в виде фрагментов (Fv) антител, связывающих антиген с определенной специфичностью и авидностью. Распологая биологическую экспрессируемую бактериофагом фрагментов, можно производить отбор (на основе взаимодействия) со специфическим антигеном фатовых частей, продуцирующих тот или иной Fv-фрагмент. Кроме того, если данным бактериофагом инфицировать соответствующие бактерии, они начинают выделять Fv-белок в большом количестве в культивируемую среду. Такой подход не требует обязательной иммунизации животных или человека.

Моноклональные антитела представляют собой четко определенный реагент, но они не обладают более высокой специфичностью по сравнению с поликлональной антисывороткой, состоящей из смеси антител в результате взаимодействия иммуноглобулинов с его различными эпитопами.

**Выделение популяций лимфоцитов.** Для проведения многих иммунологических исследований *in vivo* и *in vitro* требуются те или иные популяции лимфоцитов. Их получают от экспериментальных животных, в основном из тимуса, селезенки и периферических лимфатических узлов. Некоторые специальные исследования требуют выделения клеток из других участков организма, например из пейеровых бляшек. Рециркулирующие клетки можно получить путем канюлирования грудного лимфатического протока и сбора клеток в течение нескольких часов. У человека, как наиболее легко выделить лимфоциты периферической крови, а хирургическим путем можно получить также клетки селезенки, тималина и лимфатических узлов. Однако хирургически отобранный материал часто содержит инфекционные агенты или опухолевые клетки, в зависимости от забора, которое вызвало необходимость хирургического вмешательства. Следует иметь в виду, что клеточные популяции, содержащиеся в периферических тканях, совершенно различны как по степени зрелости



ти лимфоцитов, так и по численному соотношению в них клеток разных типов.

Тимус является источником довольно чистой Т-клеточной популяции, однако составляющие ее лимфоциты различаются по степени зрелости. При работе с лимфоцитами из других органов и тканей часто возникает необходимость в выделении отдельных субпопуляций для анализа их особых функций. Применение с этой целью описанного выше проточного флуоресцентного клеточного сортера, позволяющего разделять лимфоциты по их поверхностным маркерам, разрешает получать лишь ограниченное число клеток, поскольку скорость цитометрии с сортировкой весьма низкая. Существует, однако, и ряд методов, позволяющих выделять лимфоциты и их отдельные субпопуляции сразу из всего объема исследуемого образца, — центрифугирование в градиенте плотности, розеткообразование, пэннинг и магнитное разделение.

Выделение в градиенте плотности основано на том, что лимфоциты имеют меньшую плотность, чем эритроциты и гранулоциты. Этот способ позволяет выделить большую часть лимфоцитов крови. Розеткообразование и пэннинг («просеивание» через подложку) используют для выделения субпопуляций. Пэннинг представляет собой разновидность аффинной хроматографии применительно к лимфоцитам. На сходном принципе основан и способ разделения при помощи магнитных гранул, покрытых специфическими антителами (например, анти-CD4). При смешивании с клетками гранулы связывают те из них, которые распознаются фиксированными антителами. Эти клетки можно затем смыть с гранул или выделить путем наложения магнитного поля. Другой способ — он применяется для удаления ненужной клеточной популяции, — основан на использовании антител и комплемента. Если к смеси клеток добавить специфические антитела (например, анти-CD8), а затем комплемент, клетки соответствующей субпопуляции будут лизированы. Конечно, для этого метода пригодны лишь такие антитела, которые связывают комплемент; кроме того, клетки-мишени должны нести на поверхности достаточное количество молекул антигена, чтобы фиксировать литическую дозу комплемента.

Источником определенных популяций лимфоцитов могут служить антигенспецифические Т-клеточные линии, культивируемые в течение длительного периода. Получение таких линий позволяет обойтись без частого выделения первичных культур из органов и тканей животных.

**Методы получения эффекторных клеток.** Разработаны различные методы для определения эффекторных функций лимфоцитов, в частности продукции антител, цитотоксичности и опосредованной Т-лимфоцитами помощи и супрессии.

В-лимфоциты, продуцирующие IgM- или IgG-антитела, можно определить при помощи метода локального гемолиза, или реакции бляшкообразования (рис. 79). Другим способом выявления

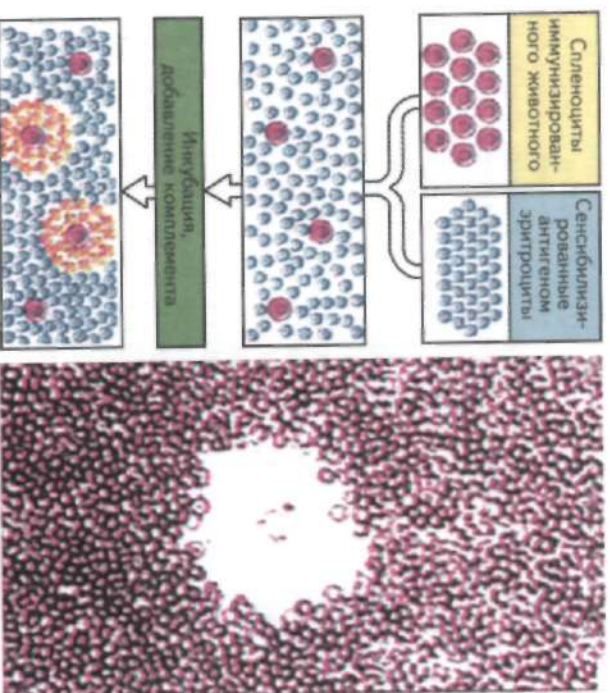


Рис. 79. Определение бляшкообразующих клеток.

Для определения антителообразующих клеток методом локального гемолиза, или бляшкообразования, к исследуемой клеточной популяции добавляют эритроциты, сенситизированные антигеном. При последующей инкубации эритроциты, окружающие антителообразующую клетку, связывают секретируемые ею специфические антитела и в результате лизируются комплементом. Вид образующихся при этом зоны просветления — бляшки — с В-клеткой в центре показан справа. Локальный гемолиз может быть двух типов. **Первой локальный гемолиз:** антигенспецифические IgM-антитела, продуцируемые антителообразующей клеткой, способны непосредственно вызывать комплементзависимый гемолиз, поскольку эти антитела обладают высокой комплементсвязывающей активностью. **Второй локальный гемолиз:** антигенспецифические IgG-антитела связывают комплемент не столь эффективно, и чтобы усилить способность IgG-продуцирующих клеток лизировать эритроциты-мишени, требуется добавить антител анти-IgG. Соединяя тесты прямого и непрямого локального гемолиза, можно расширенно определять число IgM- и IgG-образующих клеток.

Антителообразующих клеток служит иммуноферментный тест ELISPOT. Он позволяет определять функционально активные Т-клетки, секретирующие те или иные растворимые медиаторы, т. е. цитокины. Определение проводят на подложке с иммобилизованными антителами к специфическому цитокину (например, анти-ИФ). Эти антитела связывают данный цитокин, выделяемый Т-клеткой в окружающую зону, и эффект связывания можно выявить путем соответствующей обработки подложки: вокруг цитотоксины выделяющих Т-клеток будут видны окрашенные пятнышки.

**Миграция лимфоцитов.** В экспериментах по изучению миграции лимфоцитов *in vivo* обычно исследуют распределение в тех



или иных тканях введенных внутривенно меченых клеток. Клетки метят либо радиоизотопами, либо стабильными флюорохромами. Радиоактивную метку применяют для количественного определения клеточной миграции. Локализацию меченых клеток в органе можно установить радиоавтографически или путем флюоресцентной микроскопии.

**Определение молекул адгезии, участвующих в миграции лимфоцитов, проводят, как правило, *in vitro*.** В тесте Стэмпера—Вулфура (Stamper—Woodfoole) определяют непосредственно адгезию лимфоцитов к стенкам венул с высоким эндотелием на срезах лимфатических узлов, пейеровых бляшек или других тканей, содержащих такие венулы. Число адгезированных клеток подсчитывают под микроскопом. Если при добавлении антител против молекул межклеточной адгезии уровень адгезии снижается, это служит доказательством того, что они взаимодействуют в участках, близких к активным центрам данных молекул. Другим способом выявления молекул адгезии может быть блокирование *in vitro* адгезии лимфоцитов к монослою эндотелиальных клеток. В этом случае, чтобы убедиться в присутствии молекул адгезии, метят лимфоциты или эндотелиальные клетки и используют блокирующие адгезию антитела для иммунопреципитации специфических молекул адгезии.

**Контрольные вопросы и задания.** 1. Дайте определение неспецифической, активной и пассивной вакцинации, живым, рекомбинантным и убитым вакцинам. 2. Дайте характеристику современным подходам к созданию эффективных вакцин. 3. Перечислите требования, предъявляемые к вакцинам. 4. В чем роль адьювантов в системе иммунизации? 5. Поясните сущность иммунных ливностических реакций. 6. В чем особенности иммунологических методов диагностики инфекционных заболеваний? 7. Изложите сущность следующих иммунологических методов диагностики заболеваний: РП, РИД, РГА, РСК, прямой ИФ, иммунологический анализ антител и антител с помощью меченых реагентов, ферментный иммуносорбентный анализ, иммуноблоттинг, получение моноклональных антител, определение комп-лемента.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение</b> .....	3
<b>Глава 1. Антигены</b> .....	5
1.1. Распознавание антигена — основа приобретенного иммунитета .....	5
1.2. Антигены животного происхождения .....	8
1.3. Антигены бактериальной клетки .....	9
<b>Глава 2. Защитные механизмы макроорганизма</b> .....	13
2.1. Естественная резистентность .....	13
2.2. Имунная система организма .....	23
2.2.1. Лимфоидные ткани первичных и вторичных лимфоидных органов и об-разований .....	24
2.2.2. Циркуляция лимфоцитов .....	33
2.3. Клетки, осуществляющие иммунный ответ .....	36
2.3.1. Лимфоидные клетки .....	42
2.3.2. Мононуклеарные фагоциты .....	51
2.3.3. Антигенпрезентирующие клетки .....	52
2.3.4. Полиморфно-ядерные гранулоциты, тучные клетки и тромбоциты .....	55
2.4. Антигены и клеточные рецепторы для них .....	59
2.4.1. Иммуноглобулины — особое семейство белков .....	61
2.4.2. Структура антител .....	65
2.5. Комплемент .....	69
2.5.1. Активация комплемента .....	74
2.5.2. Биологические эффекты комплемента .....	81
<b>Глава 3. Иммунный ответ организма</b> .....	89
3.1. Механизмы иммунного ответа .....	89
3.2. Источники разнообразия антигенраспознающих структур. Теория образова-ния антител .....	93
3.3. Распознавание антигена .....	97
3.3.1. Связывание антигена с антигеном .....	98
3.3.2. Распознавание антигена Т-клетками .....	102
3.3.3. Процессинг и презентация антигена .....	103
3.4. Реакции клеточного иммунитета .....	108
3.4.1. Цитокины и их клеточные рецепторы .....	110
3.4.2. Защитные механизмы, независимые от Т-клеток .....	117
3.4.3. Т-зависимый клеточный иммунный ответ .....	122
3.4.4. Роль макрофагов в иммунном ответе .....	123
3.4.5. Образование гранулем .....	126
3.4.6. Взаимодействие клеток при гуморальном иммунном ответе .....	127
3.5. Воспаление .....	131
3.6. Гиперчувствительность — типы I, II, III и IV .....	135
3.6.1. Гиперчувствительность I (немедленного) типа .....	137
3.6.2. Гиперчувствительность II типа .....	139
3.6.3. Гиперчувствительность III типа .....	143
3.6.4. Гиперчувствительность IV типа .....	148

3.7. Иммунитет к бактериальным и микотическим инфекциям .....	152
3.7.1. Иммунитет к бактериям .....	153
3.7.2. Иммунитет к грибам .....	168
<b>Глава 4. Регуляция иммунного ответа .....</b>	<b>170</b>
4.1. Антиген как фактор иммунорегуляции. Антигенпрезентирующие клетки ...	171
4.2. Регуляторное влияние антигенов .....	174
4.3. Нейроэндокринная регуляция иммунного ответа .....	175
4.4. Иммунологическая толерантность .....	178
<b>Глава 5. Иммунология .....</b>	<b>182</b>
5.1. Первичная иммунологическая недостаточность .....	184
5.2. Вторичная иммунологическая недостаточность .....	185
5.3. Корrelation и иммунологическая реактивность .....	187
<b>Глава 6. Прикладная иммунология .....</b>	<b>191</b>
6.1. Вакцинация .....	191
6.1.1. Эффективность вакцин .....	197
6.1.2. Адъюванты .....	199
6.1.3. Пассивная иммунизация .....	199
6.2. Принципы регистрации иммунного ответа .....	201
6.3. Иммунологические методы .....	206

*Учебное издание*

Киселев Виктор Никифорович,  
Кольчев Николай Матвеевич

## **ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ**

### **Часть 2. Иммунология**

Учебник для вузов

Художественный редактор В. А. Чуракова  
Компьютерная верстка Н. А. Зубковой  
Корректор Н. С. Селюва

Сдано в набор 31.01.06. Подписано в печать 23.10.06. Формат 60 × 88<sup>1/8</sup>. Бумага офсетная. Гарнитура Ньютон. Печать офсетная. Усл. печ. л. 13,72. Изд. № 061. Тираж 2000 экз. Заказ № 6949.

ООО «Издательство «КолосС», 101000, Москва, ул. Мясницкая, д. 17.  
Почтовый адрес: 129090, Москва, Астраханский пер., д. 8. Тел. (495) 680-99-86,  
тел./факс (495) 680-14-63, e-mail: koloss@koloss.ru, наш сайт: www.koloss.ru

Отпечатано с готовых диапозитивов в ОАО «Знак Почта»  
«Смоленская областная типография им. В. И. Смирнова».  
214000, г. Смоленск, пр-т им. Ю. Гагарина, 2.